

CLAUDIA KANASHIRO

**Estudo morfológico da placenta de capivara (*Hydrochaeris  
hydrochaeris*): terço inicial**

São Paulo  
2006

CLAUDIA KANASHIRO

**Estudo morfológico da placenta de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*): terço inicial**

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

**Orientadora:**  
Prof<sup>ª</sup>. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos

São Paulo  
2006

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

*ef*  
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA  
E ZOOTECNIA DA USP  
4/12/06

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.1812  
FMVZ

Kanashiro, Claudia

Estudo morfológico da placenta de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*): terço inicial / Claudia Kanashiro. – São Paulo: C. Kanashiro, 2006.

105 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

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

Área de Concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos.

1. Roedores. 2. Histicomorfos. 3. Hydrochaeridae. 4. Capivaras. 5. Placenta. I. Título.



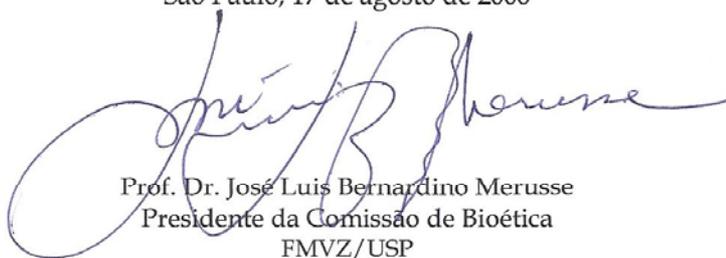
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
*Comissão Bioética*

## CERTIFICADO

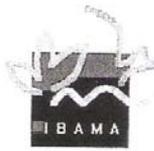
Certificamos que o Projeto intitulado “Estudo morfológico da placenta da capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) - Terço inicial”, protocolado sob o nº927/2006, utilizando 20 (vinte) capivaras (peças de matadouro), sob a responsabilidade da Dra. Tatiana Carlesso dos Santos , está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 16/08/06”.

(We certify that the Research “Morphological study of capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) - Early Gestation”, protocol number 927/2006, utilizing 20 (twenty) capybaras, under the responsibility of Dra. Tatiana Carlesso dos Santos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 08/16/2006).

São Paulo, 17 de agosto de 2006



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



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA/MMA  
SUPERINTENDÊNCIA DO IBAMA NO ESTADO DE SÃO PAULO  
Alameda Tietê, 637 – Cerqueira César  
01417-020 – São Paulo – SP  
Fone: (0\*\*11) 3066.2633 – Fax 3066.2665  
FAUNA e RECURSOS PESQUEIROS

OF. Nº 666/ 06 – Fauna /IBAMA/SP

São Paulo, 08 de Agosto de 2006.

Retorno V. Sa. consulta sobre o pedido de Autorização para licença de coleta e transporte de material zoológico para fins científicos referente ao projeto “Estudo morfológico da placenta e embriologia de capivara”, a ser desenvolvido por Claudia Kanashiro e Hugo Trujillo.

Com relação à obtenção de úteros de capivaras do FRIGORÍFICO PANAMBY –PORÃ provenientes de criadouros comerciais, informamos que pelas normas legais (Portaria nº 332/90 e Portaria nº 117/97) ficam os alunos dispensados de solicitar autorização para pesquisa e transporte uma vez que os subprodutos sejam acompanhados da devida Nota Fiscal de compra dos mesmos no abatedouro em questão.

Caso queira ter maior segurança com relação ao produto adquirido, em se tratando de animal da fauna silvestre brasileira, sugerimos que solicitem ao Frigorífico a Nota Fiscal do fornecedor do animal (criadouro comercial) para o Panamby-Porã. Caso ainda julguem necessário checar a procedência do animal, consultem-nos novamente a cerca da situação do criadouro fornecedor.

Atenciosamente,

ROSSANA BORIONI  
Chefe Substituta  
Divisão de Fauna  
Matrícula: 1423508

Ilma. Sra.

**Profa. Dra. TATIANA CARLESSO DOS SANTOS**

Pós-graduação em anatomia dos animais domésticos e silvestres

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia -USP

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária

CEP: 05508-000- São Paulo, SP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: KANASHIRO, Claudia

Título: Estudo morfológico da placenta de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*):  
terço inicial

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 Medicina Veterinária Ciências

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

*A minha família:*

*Aos meus pais Seiji e Tokiye pelo ensinamento de vida: simplicidade, honestidade, justiça, solidariedade e ao mais sublime de todos, o amor incondicional. Vocês são os maiores mestres, meus eternos amores.*

*Aos meus queridos e admiráveis irmãos Yuri e Marcelo pelo carinho e apoio sempre constantes. Exemplos de competência, responsabilidade e muita generosidade.*

*“A família é a base da sociedade e o lugar onde as pessoas aprendem pela primeira vez os valores que os guiarão durante toda a vida”*

*João Paulo II*

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

*A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiana Carlesso dos Santos pelo estímulo constante para minha pesquisa, possuidora de um carisma e uma simpatia inigualável, lutadora e empreendedora, com conhecimento extremado e intensão de sempre compartilhá-lo, proporcionando uma das melhores amizades que pude obter. Obrigada por contribuir para meu crescimento profissional e, especialmente pelo respeito, atenção, carinho e amizade. A você, minha eterna gratidão.*

*A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Angélica Miglino pelo apoio e incentivo no ingresso na pós-graduação, pelo carinho e atenção que sempre demonstrou, e por ter me dado a chance de realizar este trabalho, muito obrigada por acreditar que seria capaz.*

*“A vitória do sucesso é metade conquistada quando você ganha o hábito de estabelecer metas e alcança-las. Mesmo a mais entediante rotina torna-se suportável quando você marcha e cada dia convencido que toda tarefa lhe traz mais perto de conquistar seus sonhos”*

## AGRADECIMENTOS

*Aos meus amigos queridos, pela ajuda na coleta e processamento do material desta pesquisa e na elaboração deste trabalho: Fabiana Santos Matsumoto, Patrícia Reginato, Álvaro Carlos G. Reveros, Marina Osti Maia, Joel Alves de Souza, Rogério César Parizzi, Miryan L. V. Alberto, Vivian Samoto, Caue Procópio, Roseli Grassi Rici, Hugo Gutierrez, Ana Rita Lima e Emerson Fioreto Ticoná. E a todos da pós-graduação da anatomia, pela amizade.*

*Aos técnicos do setor de anatomia pela amizade, carinho e ajuda: Sandra Affonso Freiburger, Ronaldo Agostinho da Silva, Ednaldo Ribas Farias (Indio), Diogo Mader, João do Carmo Freitas, Raimundo Leão de Sousa e Natalia Garcia de Andrade (Branca),*

*Aos funcionários do departamento: Maicon Barbosa da Silva, Jaqueline Martins Santana, Paolo Valério Caborufcio e Gracieva Aparecida Nogueira pelo auxílio durante todo esse período.*

*Ao José Junior Guimarães Rosa e Gonzalo Barqueiro do frigorífico Panamby-Porá pela obtenção do material deste trabalho.*

*As meninas da biblioteca, Elza Maria R. B. Faquim, Fernanda Cezar Ribeiro e Helena Aparecida Tanganini, pela colaboração, disponibilidade e paciência.*

*Pelos serviços prestados nos laboratórios de Patologia e no ICB: Cláudio Arroio, Gaspar Ferreira de Lima e Gerson Batista da Silva.*

*À Marina Bonatelli, Rosângela Felipe Rodrigues, Moacir Franco de Andrade, Rosa Helena dos Santos Ferraz, Prof. Dr. Pedro P. Bombonato, Maria Illera del Portal, Anthony M. Carter e José Manoel dos Santos, pela disponibilidade, dedicação e incentivo que sempre me deram ao desenvolver meu trabalho.*

*A Claudia Lima, Deise Maria Alves Flexa e Joana Ferreira Dias Vasconcelos, da secretaria de pós-graduação.*

.

## RESUMO

KANASHIRO, C. **Estudo morfológico da placenta de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*)- terço inicial.** [Morphological study of placenta capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*): early gestation]. 2006. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), maior roedor, pertence à subordem dos Histricomorfos, os quais caracteristicamente possuem subplacenta. Com o objetivo de descrever o desenvolvimento da placenta durante o terço inicial de prenhez analisaram-se 3 úteros e suas placentas (n=9) e 7 úteros vazios, os quais foram fixados em formol 10% em tampão fosfato, obtidas no Frigorífico Panamby-Porã. Cada placenta foi fixada em formol 10% PBS. Macroscopicamente o útero é duplo, com 1 óstio vaginal da cérvix, e em fêmeas prenhez possui regiões abauladas que representam as placentas, implantadas na face mesometrial, com conexões com a face antimesometrial por tiras esbranquiçadas. As placentas analisadas sinalizavam diferentes idades gestacionais pelo crow-rump dos fetos (11,5mm, 55mm e 58cm). A decídua capsular (3-5 mm) envolve o conjunto placentário e torna-se mais delicada e transparente com o avançar da prenhez. Os embriões estão envoltos pelo âmnio, e ventralmente comunicam-se com a placenta principal pelo cordão umbilical. As seguintes regiões placentárias foram identificadas como, decídua (capsular e basal), placenta vitelínica (visceral e parietal), âmnio, placenta principal e subplacenta. A inversão do saco vitelínico caracteriza-se pela placenta vitelínica visceral e parietal. A placenta principal é discóide e lobulada. Os lóbulos surgem na face fetal e desenvolvem-se em direção ao centro da placenta principal. A imunomarcagem positiva da citoqueratina no cinsiotrofoblasto e da vimentina no endotélio dos capilares fetais comprovou a organização do labirinto. A subplacenta esta na interface da placenta principal com a decídua basal, e composta por lóbulos de sinciotrofoblasto citoqueratina positivos, dispostos sobre o eixo de mesênquima intensamente vascularizados. Estes resultados demonstram que a placentação da capivara é semelhante àquela descrita em guinea-pig, paca, cutia e mocó.

Palavras-chave: Roedores. Histricomorfos. Hydrochaeridae. Capivaras. Placenta

## ABSTRACT

KANASHIRO, C. **Morphological study of placenta capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*): early gestation.** [Estudo morfológico da placenta de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*)- terço inicial]. 2006. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), largest rodent, belongs to the suborder of the *Hystricomorpha*, which characteristically possesses subplacenta. Aiming to describe the development of the placenta during early gestation, it was analyzed seven control and three pregnant uterus and its placentas (n=9), which were fixed in a 10% PBS formol solution; the animals were acquired at the Panamby-Porã abattoir. Gross anatomically, the uterus was doubled presenting one vaginal ostium in the cervix; in the uterus of pregnant females it is observed swelling regions that represents the placenta, which is implanted in the mesometrial face, being connected to the anti-mesometrial face by white streaks. The fetuses crow-rump classification – 11.5mm, 55mm and 58cm – signaled different gestational periods. The capsular decidua (3-5 mm) involves the placental set and becomes more delicate and transparent during the pregnancy. The embryos are packed by the amnion, and are ventrally connected to the principal placenta by the umbilical cord. Placental regions were identified: capsular and basal decidua, visceral and parietal vitelline placenta, amnion, principal placenta and subplacenta. The inversion of the yolk sac was characterized by the parietal and visceral vitelline placenta. The principal placenta was discoid and lobulated. The lobules aroused in the fetal face and developed in direction to the center of the principal placenta. The positive immune labeling to citokeratin in the syncytium trophoblast and of vimetin in the capillar endothelium proved a labyrinth formation. The subplacenta aroused along the interface of the main placenta and the basal decidua and it is composed by lobules of positives citokeratin syncytium trophoblast disposed over the well developed vascular mesenchima. These results demonstrate that the placentation of the capybara is similar to guinea-pig, paca, agouti and mocó descriptions.

Key words: Rodents. Hystricomorpha. Hydrochaeridae. Capybaras. Placenta

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotografia de capivaras adultas.....	42
Figura 2 -	Fotografias de útero “vazio” de capivara adulta. A-B) Notar a disposição dos vasos sanguíneos (vs) no mesométrio que sustenta os cornos uterinos (co) e os ovários (ov). Corte transversal (C) e longitudinal (D) da cérvix uterina (ce), evidenciando a cérvix dupla caracterizada pela presença do septo entre elas, mas que se unem, para formar um óstio vaginal. ....	49
Figura 3 -	fotomicrografias dos cornos uterinos “vazio” de capivara adulta. A) Corte transversal evidenciando as túnicas mucosa (tmu), muscular (tms) e serosa (tse). B) Túnica mucosa com epitélio pseudoestratificado (ep) e glândulas simples (gl) dispersas no conjuntivo. C) Detalhe da túnica muscular com o <i>Stratum serosum</i> (ss), <i>Stratum vasculare</i> (sv) e <i>Stratum submucosum</i> (ssu). Paraplast, HE (A,B), Tricomo de Masson ©. Barra: A) 1 cm, B) 100 µm C) 200 µm. ....	50
Figura 4 -	Fotografia do corno uterino prenhe de capivara adulta a fresco. A) Vista lateral do corno uterino (co) da fêmea 04 após abertura para exposição das placentas (pl) inseridas na face mesometrial do útero (seta). B) Corno uterino incisado na face antimesometrial permitindo a visualização da superfície da placenta da fêmea 03. C) Placentas da fêmea 06, notar a considerável diferença no desenvolvimento placentário de ambas .....	54
Figura 5 -	Fotografias de embriões e fetos de capivara em terço inicial de prenhez após fixação em formol. A) Embrião (12,4 mm) evidenciando a flexura cervical (fc), os arcos faríngeos (af), a região cardíaca (cor), os brotos dos membros torácicos (mt) e pélvicos (mp), a região cefálica (rc), o cordão umbilical (cd) e envolto pelo âmnio (am). Fetos (B) 55 mm e (C) 58 mm com morfologia externa semelhante em que observaram-se a pálpebra recobrendo o olho pigmentado (ol), o pavilhão auricular da orelha externa (or), a área hepática (he), a face desenvolvida com focinho e boca (bo) evidentes, membros desenvolvidos com dígitos individualizados (di), vasos dérmicos vistos por transparência (*) e cordão umbilical (cd). Barra 10 mm.....	55
Figura 6 -	Corte sagital mediano da placenta de capivara em início de prenhez e esquema correspondente. Útero antimesometrial (uta), útero mesometrial (utm), decídua capsular (dec), decídua basal (déb), placenta vitelínica visceral (pvv), placenta vitelínica parietal (pvp), placenta principal (pp), subplacenta (sub), âmnio (am), cordão umbilical (cd), vasos vitelínicos (vv), embrião (em) e cavidade uterina (cv). Barra 1 cm.....	57
Figura 7 -	A) o conjunto representado pela placenta e decídua possui formato ovalado. B) Em corte transversal de placenta fixada a decídua capsular (dec) está espessa e possui aspecto “esponjoso”. C-D) Esta torna-se mais fina e transparente nos animais mais desenvolvidos das fêmeas 06 (C) e 03 (D). As setas identificam os tirantes de conexão entre a face antimesometrial do útero e decídua capsular. Decídua basal (déb). Barra 1 cm.....	58
Figura 8 -	Fotomicrografia da decídua capsular da placenta de capivara da fêmea 3 (A-B) e da fêmea 4 (C). A) Vista panorâmica. B-C) Detalhe da superfície voltada para a luz uterina recoberta por epitélio simples (seta). Vasos sanguíneos (vs). Paraplast, HE, Barra A) 500 µm e B-C) 50 µm .....	59
Figura 9 -	A-B) A Face interna da decídua capsular (dec) após a incisão na face luminal e exposição da placenta vitelínica visceral (pvv) vascularizada (*) e do embrião contido no seu interior conectado a placenta principal (pp) pelo cordão umbilical (seta). C-D) Placenta de capivara evidenciando o âmnio (am) envolvendo o feto conectado a placenta principal pelo cordão umbilical (cd). Notas a inserção do âmnio (setas escuras) e da placenta vitelínica visceral (setas brancas) sobre a superfície da placenta principal.....	62
Figura 10 -	A) Fotomicrografia de corte de placenta de capivara identificando a projeção da placenta vitelínica visceral (pvv) e da placenta vitelínica parietal (pvp) sobre a margem da placenta principal (pp), em que vê-se a formação do anel fibrovascular (fv). B-C) detalhes da placenta vitelínica visceral em áreas sem e com pregas, notar a vascularização intensa (vv) e o epitélio cilíndrico (ep). Paraplast, HE. Barra A) 200 µm, B) 100 µm, C) 40 µm inserir.....	63
Figura 11 -	Fotomicrografias da margem lateral da placenta principal, recoberta pela placenta vitelínica parietal (pvp), a qual está sobre uma faixa de tecido conjuntivo, a membrana de Reichert's. Nesta região visualizam-se também as células do espongiotrofoblasto (esp) e as áreas de interlóbulo (int). Barras A) 40 µm, B-C) 100 µm .....	64

Figura 12 - Fotomicrografias da margem de inserção do âmnio (am) sobre a placenta principal (pp). O âmnio está composto por um epitélio pavimentoso simples (seta) sobre uma faixa de tecido conjuntivo frouxo (tc). Barra A-B) 40 µm .....	65
Figura 13 - Corte sagital mediano de placenta a fresco da fêmea 04 (A) e 03 (B) evidenciando as diferentes regiões da placenta a capivara. C) Detalhe estrutural da placenta em A. Notar a formação da placenta principal (pp) composta por regiões de lóbulo (lob) e interlóbulo (int). decídua basal (déb), placenta vitelínica visceral (pvv), subplacenta (sub). Paraplast, HE, Barra 1 cm .....	68
Figura 14 - Fotomicrografia da região paramediana da placenta de capivara (fêmea 03). Nesta fase os lóbulos (lob) estão bem definidos e a região de interlóbulo (int) apresenta grandes lacunas (*). Decídua basal (déb), placenta vitelínica visceral (pvv), subplacenta (sub). Paraplast, HE, Barra 500 µm .....	69
Figura 15 - Esquemas de corte sagital mediano de placenta de capivara em início de prenhez .....	70
Figura 16 - Fotomicrografias das regiões de lóbulo (lob) e de interlóbulo (int) da placenta de capivara. No centro do lóbulo (cl) vasos formam um labirinto de sinciotrofoblasto (sin) margeando as lacunas maternas (lac), os quais continuam-se pelas lacunas na região de interlóbulo. Paraplast, HE, Barra A) 200 µm, B) 40 µm, C) 20µm .....	71
Figura 17 - Fotomicrografias da subplacenta de capivara (fêmea 03). A) Vista panorâmica da subplacenta (sub) evidenciando sua posição entre a placenta principal (pp) e a decídua basal (déb). B) Detalhe da característica lobulada da subplacenta. C-E) Composição histológica da subplacenta em área de conjuntivo fetal com vasos sanguíneos (vs), citotrofoblasto (cit) e sinciotrofoblasto (sin) eosinófilo e PAS+. Paraplast A,B,C) HE, C) Tricomo De Masson e E) PAS. Barras A) 1000 µm, B) 100 µm, C,E) 40 µm e D) 20µm .....	73
Figura 18 - Fotomicrografia da zona juncional da capivara evidenciando as células gigantes imersas em material amorfo eosinófilo e PAS+. Notar a proximidade com a parede de vasos sanguíneos (vs). Paraplast, HE (A, C, D) e (B) PAS. Barras A,B,D) 40 µm e C) 20µm .....	74
Figura 19 - Fotomicrografias da decídua basal da placenta de capivara. A) Corte longitudinal da área de decídua basal evidenciando regiões distintas de decídua compacta e de decídua desorganizada. Detalhe das células dispersas pela decídua próximo a vasos (vs) e grandes células decíduais (*). (Paraplast HE, Barras A) 2000 µm, B) 100 µm, C) 40 µm e D) 20µm .....	76
Figura 20 - Fotomicrografias da placenta vitelínica parietal (A,C) e visceral (B,D,E,F) de capivara. Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A-B) nas células epiteliais (ep) e espongiotrofoblasto (esp), para vimentina (C-D) nas células endoteliais (em) e nos fibroblastos e para alfa-actina (E-F) na parede de vasos e conjuntivo. Paraplast Barra A-D,F) 100 µm, E) 40 µm .....	78
Figura 21 - Fotomicrografias da placenta principal da capivara com áreas de labirinto (lab) e interlóbulo (int). Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A) nas células do sincício, para vimentina (B) no endotélio dos capilares do labirinto e para a actina (C-D) na parede de vasos do labirinto e do interlóbulo. Paraplast, Barra 100 µm .....	79
Figura 22 - Fotomicrografias da placenta principal da capivara com áreas de labirinto e interlóbulo. Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (a-B) nas células de sincício, para vimentina (C-D) no endotélio dos capilares do labirinto, e para actina (D-E) nos vasos do labirinto, e reação negativa nas lacunas (lac) do interlóbulo (F). Paraplast, Barra A-C,F) 40 µm, D-E) 100 µm .....	80
Figura 23 - Fotomicrografias da subplacenta de capivara. Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A) forte nas células do citotrofoblasto (cit) e fraca no sinciotrofoblasto (sin) e nas células gigantes (B). As células endoteliais e fibroblasto com reação positiva para vimentina (C) e positivo na parede de vasos para alfa-actina (D). Paraplast, Barra A) 100 µm, B-D) 40 µm .....	81
Figura 24 - Fotomicrografias de área de decídua na placenta de capivara. Imunolocalização positiva para citoqueratina (A-B) nas células gigantes (gig) e em células com grandes núcleos na parede dos vasos (seta) e células arredondadas agrupadas (*). Vimentina positiva © nas células endoteliais e nos fibroblastos e para alfa-actina (D) na parede de vasos e conjuntivo. Paraplast, Barra A) 100 µm, B-D) 40µm .....	82

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Comprimento (cm) dos cornos uterinos direito e esquerdo de capivaras não-prenhes - São Paulo – 2006.....47
- Tabela 2 Posição no útero, número e comprimento dos embriões e fetos de capivaras - São Paulo – 2006.....52

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	19
2.1	OBJETIVO GERAL .....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
3	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
3.1	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS .....	21
3.2	MORFOLOGIA DO ÚTERO DE ROEDORES .....	23
3.3	CARACTERÍSTICAS GERAIS DA PLACENTA .....	25
3.4	PLACENTA EM ROEDORES.....	26
3.4.1	Decídua Capsular.....	28
3.4.2	Placenta Vitelínica e Âmnio .....	29
3.4.3	Placenta Principal.....	31
3.4.4	Subplacenta .....	34
3.4.5	Imunolocalização e Citoqueratina, Vimentina e Alfa-actina .....	37
4	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	41
4.1	ANIMAIS .....	41
4.2	ANÁLISE MACROSCÓPICA .....	42
4.3	MICROSCOPIA DE LUZ .....	43
4.3.1	Reações de PAS (Ácido Periódico – Shiff) .....	43
4.4	Imunolocalização da Citoqueratina, Vimentina e Alfa-actina.....	44
4.4.1	<b>Citoqueratina e Vimentina</b> .....	44
4.4.2	<b>Alfa-actina de Músculo Liso</b> .....	45
5	<b>RESULTADOS</b> .....	47
5.1	ÚTERO .....	47
5.2	PLACENTA E EMBRIÃO.....	51
5.2.1	Decídua Capsular.....	56
5.2.2	Placenta Vitelínica.....	60
5.2.3	Âmnio .....	61
5.2.4	Placenta Principal.....	66
5.2.5	Subplacenta .....	72
5.2.6	Decídua Basal .....	75
5.2.7	Citoqueratina, Vimentina e Alfa-actina de Músculo Liso .....	77
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	84
6.1	ASPECTOS REPRODUTIVOS DA CAPIVARA.....	84
6.2	MORFOLOGIA DO ÚTERO, EMBRIÕES E FETOS.....	85
6.3	MORFOLOGIA DA PLACENTA .....	87
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	98
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	101

## *1 Introdução*

## 1 INTRODUÇÃO

A incorporação de novas espécies de animais herbívoros nos sistemas de produção pecuária é uma alternativa que visa incrementar a produção de proteína e de outros produtos de origem animal. Muitas destas espécies são oriundas da fauna silvestre, exigindo cuidados especiais, pois além da preservação destas, evitando a sua extinção, faz-se necessário o conhecimento de seus aspectos biológicos (comportamento, hábitos alimentares, reprodução, habitat, etc.) para que efetivamente estes animais possam ser aproveitados de forma racional.

A importância destes estudos é inegável, principalmente aqueles que envolvem os aspectos da morfologia reprodutiva da espécie, considerando que a criação e a exploração racional da capivara são atividades em expansão em diversas regiões brasileiras dadas a implantação de criatórios comerciais, licenciados e vistoriados pelo IBAMA. Embora existam dados que contribuam com diversas informações técnicas sobre a biologia e manejo da capivara, vários aspectos da morfofisiologia do sistema urogenital e, particularmente, da placenta, carecem de estudos mais detalhados.

As capivaras formam rebanhos e possuem grande valor econômico, como animal produtor de carne, couro e óleo. A carne de capivara apresenta boa coloração, textura, paladar apreciável e com excelentes propriedades nutricionais (MONES; OJASTI, 1986). O consumo desta carne desperta grande interesse comercial, tanto no mercado nacional quanto no internacional, tornando-se economicamente relevante em muitas áreas da América Latina.

A capivara possui potencial para a domesticação, uma vez que são sociáveis e apresentam comportamento de rebanho, docilidade em relação ao homem e a outras capivaras, bem como para com animais domésticos ou silvestres de outras espécies (LAVORENTI, 1989). Outras características também favoráveis à domesticação são: estrutura do grupo com relacionamento do macho com as fêmeas, formação de rebanho e hierarquia do grupo, comportamento sexual promíscuo, no qual o macho domina várias fêmeas, não havendo diferenciação entre pais e crias, e a fêmea aceita outras crias após o parto. Além disso, possui

agilidade limitada, alimentação do tipo herbívora, com aceitação de uma ampla variedade de alimentos (forragens) (JIMÉNES, 1995).

Além destas características zootécnicas da espécie que necessitam de trabalhos em morfologia para sustentação da exploração racional, deve-se destacar o perfil do roedor em questão como uma possível espécie alternativa a ser utilizada na experimentação animal. Os roedores de um modo geral apresentam este potencial como importantes animais de laboratório em pesquisas biomédicas e genéticas.

Os roedores da subordem *Hystricomorfa* são embriologicamente interessantes, especialmente devido aos longos períodos de gestação quando comparados ao de outros roedores. Uma prematura e completa inversão das camadas germinativas é outra característica de desenvolvimento de pós-implantação nos *hystricomorfos*, com placenta discoidal, hemocorial e labiríntica. A citação da presença de uma subplacenta proeminente no desenvolvimento embrionário destes roedores (ROBERTS; PERRY, 1974) estimulou o estudo das fases iniciais da placentação na capivara, uma vez que a placenta de termo já é conhecida (MIGLINO et al., 2002).

Este trabalho visou o estudo descritivo sobre o desenvolvimento da placenta no terço inicial da prenhez da capivara, comparando os resultados obtidos com aqueles descritos para os roedores histricomorfos, e desta forma contribuir para fornecer subsídios morfológicos para futuros estudos experimentais e funcionais sobre a placenta e, principalmente sobre a subplacenta em roedores.

## ***2 Objetivos***

## 2 OBJETIVOS

Os objetivos serão descritos a seguir em dois tópicos.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever os aspectos morfológicos da placenta de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e seus anexos fetais em terço inicial de gestação.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar macroscopicamente o útero e a placenta de capivaras no terço iniciais da prenhez quanto à localização e forma;
- Descrever as estruturas componentes de cada região placentária;
- Identificar a evolução do desenvolvimento das diferentes regiões placentárias na fase analisada;
- Utilizar a imunolocalização de diferentes componentes celulares para inferir atividade ou estrutura em diferentes células placentárias.

### *3 Revisão de Literatura*

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura visou descrever as principais características biológicas da capivara, com o objetivo de caracterizar a espécie, principalmente quanto a seus aspectos reprodutivos, os quais possuem relevância com o tema proposto nesta Dissertação. Buscou-se ainda organizar as informações bibliográficas referentes ao útero e a placenta de roedores organizando-as pelas diferentes regiões placentárias descritas em roedores, principalmente em histricomorfos e caviomorfos.

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) pertence a classe *Mammalia*, a ordem *Rodentia*, a subordem *Hystricognathi*, a família *Hydrochaeridae* (única espécie que representa a família *Hydrochaeridae*) e ao gênero *Hydrochaeris* (CARLETON, 1984)., sendo considerados os maiores roedores vivos, com 100-130 cm de comprimento e 50-70 kg (STORCH, 2004).

Seus membros torácicos e pélvicos possuem dígitos unidos por membranas. A coloração varia de marrom escuro a avermelhada até marrom brilhante e cinza amarelado (MONES; OJASTI, 1986). São animais exclusivamente herbívoros, a origem de seu nome comum denota de seus hábitos alimentares, a palavra “capibara” tem sua origem na língua do Cuaruai e significa o “mestre da grama”.

Na capivara, Jiménez (1995) analisou o corpo e observou que estas possuíam na sua pata uma membrana natatória e unhas fortes. O membro posterior possuíam 4 dígitos e o anterior 3 dígitos.

Nas capivaras durante o período sexual ativo, o macho fica próximo a fêmea a cortejando e mantendo contato com o focinho e mordiscando ao redor da região perineal até que a fêmea o aceite, podendo durar esse cortejo por até 1 mês. (OJASTI, 1968). No estro, a fêmea de capivara manifesta um comportamento exclusivamente heterossexual, sendo que o macho inicia o cortejo da fêmea pelo reconhecimento de secreções glandulares localizadas na região nasal e pela

olfação da genitália externa (LOPEZ, 1984). Posteriormente, movimentos circulares que duram cerca de 5 a 10 minutos culminam com a primeira intenção de cópula, quando então a fêmea expõe o períneo. O macho efetua em torno de 6 montas antes de introduzir o pênis e ejacular (com duração aproximada de 3 segundos) ao término da cópula o macho torna-se agressivo com a fêmea. A cópula quase sempre ocorre na água onde a fêmea nada para frente e para trás, perseguida pelo macho até que ela demonstre receptividade (ALHO et al., 1987b; ZARA, 1973).

Em relação ao número de filhotes por ninhada observa-se que, estes animais apresentam de 2 a 5 filhotes (ZARA, 1973). Em um estudo mais pormenorizado, registraram um número médio de  $4,4 \pm 1,3$  filhotes/ninhada, sendo as fêmeas múltiparas, capazes de produzir de 4 a 8 crias (BARBELLA, 1987; LOPEZ, 1984). Estes valores são semelhantes aos observados por Lavorenti et al. (1989) que encontraram uma média de 3,6 filhotes por parto e os de Neto et al. (1990) 3,48 filhotes por parto, respectivamente. Segundo Soiron (1993) as fêmeas mais velhas apresentavam ninhadas maiores. O período de gestação na capivara pode variar de 147 a 156 dias (ALHO et al., 1987b; BARBELLA, 1987; LOPEZ, 1984; ZARA, 1973).

O ciclo estral das capivaras foi estimado por Lopez (1980) através das análises dos níveis de progesterona, da citologia vaginal e de temperatura retal. Barbela (1982) e Lopez (1984) avaliaram capivaras em cativeiro, com ovulação espontânea utilizando as técnicas de: citologia esfoliativa, a temperatura corpórea e concentração sangüínea de hormônios luteinizantes e progestágeno. Determinando com maior precisão a duração do ciclo estral como sendo de  $7,5 \pm 1,2$  dias. A maturidade sexual em capivaras é influenciada pelas características climáticas e nutricionais das regiões em que estão localizadas (BARBELLA, 1993).

Na América do Sul, o parto das capivaras concentram-se principalmente em dois períodos do ano: um que coincide com o início das chuvas e outro que ocorre no início do período da seca (PARRA et al., 1978). Afirmaram Mones; Ojasti, 1986, que a frequência de acasalamento das capivaras é muito mais intensa no início do período chuvoso na Venezuela e nos meses de abril e em maio no Mato Grosso, sugerindo a possibilidade das fêmeas terem duas ninhadas por ano, dependendo de condições favoráveis do meio ambiente. Entretanto Alho et al. (1987a), afirma que os animais reproduzem-se durante todo o ano, mas podendo assim não caracterizando uma estação reprodutiva fixa.

### 3.2 MORFOLOGIA DO ÚTERO DE ROEDORES

Segundo Mossman (1987) em mamíferos são descritos três tipos básicos de útero: 1) duplo – dois tubos uterinos separados que podem estar unidos externamente, mas internamente desembocam independentes em dois canais cervicais. Em algumas espécies a desembocadura na vagina pode ser única, mas os canais unem-se na cérvix; 2) bicornuado – dois cornos uterinos unem-se formando um corpo do útero e abrem-se na vagina por um único canal cervical; 3) simples – externamente vê-se um simples corpo que usualmente possui pouca luz uterina e se comunica com a vagina por um simples canal cervical.

Entre os roedores, várias são as espécies com útero duplo como é o caso do guinea-pig (EGUND; CARTER 1974); do *Geomys sp* (MOSSMAN; HISAW, 1940), do rato-de-cana (ODUOR-OKELO; GOMBE, 1982) do porco-espinho canadense (PERROTA, 1959) e da chinchila (TIBBITTS; HILLEMANN, 1959), entre outros.

Oduor-Okelo e Gombe (1982) descreveram o útero do rato-de-cana (*Thryonomys swinderianus*) como bicórneo, com cornos abrindo-se diretamente na vagina por duas aberturas cervicais laterais distintas. Histologicamente o útero destes animais apresentavam-se recobertos por epitélio simples e a submucosa possuía muitas glândulas abrindo-se no lúmen.

Perrota (1959) comentou que o porco-espinho canadense (*Erethizon dorsatum*) possuía um útero de transição entre o tipo duplo e o bicórneo. Cada corno uterino abria-se um braço da cérvix em forma de Y. A porção caudal do útero internamente esta separada por um septo muscular. O lúmen uterino estava revestido por epitélio uterino colunar alto e com poucas glândulas uterinas na submucosa.

Tibbitts e Hillemann (1959) afirmaram que o útero da chinchila (*Cavia aparea*) era do tipo duplo e os cornos uterinos abriam-se em orifícios cervicais independentes na vagina. A mucosa uterina achava-se coberta por um epitélio colunar simples, contínuo, e possuía glândulas tubulares que abriam-se na luz do útero.

Entre os roedores histicormofos, a cutia possuía útero duplo parcial, com dois orifícios na porção cranial e uma abertura caudal na cérvix (MOURA et al.,

2003). Da mesma forma foi descrito na paca (MATAMOROS, 1982) e na capivara (SILVA, PERDOMO, 1983).

Com relação à estrutura do útero, Hafez (2004) referiu que o útero era constituído de um fino extrato externo, o perimétrio, um espesso miométrio, compostos de extratos musculares lisos, um circular interno e outro longitudinal externo, e um extrato interno ou endométrio. O endométrio foi caracterizado como uma estrutura altamente glandular consistindo de uma delimitação epitelial da luz, de um extrato glandular e de tecido conjuntivo. As células epiteliais colunáveis que contornavam a luz uterina possuíam importante função na interação entre o blastocisto e o endométrio, durante os estágios iniciais da gestação. O endométrio caracterizou-se pela presença de numerosas aberturas das glândulas endometriais.

O útero de capivaras não prenhez estava constituído por 3 túnicas: mucosa, muscular e serosa. O epitélio da mucosa era composto por células cilíndricas simples. Na muscular puderam-se observar as glândulas uterinas que indicavam que o animal estava em fase proliferativa do ciclo. A túnica muscular estava bastante densa e suas fibras seguiam direções circulares e longitudinais externas. A serosa era a túnica mais externa (SILVA; PERDOMO, 1983).

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

### 3.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA PLACENTA

A definição mais completa de placenta é dada por MOSSMAN (1987), onde placenta significa “a aposição de tecido fetal e parental (usualmente materno) com o propósito de trocas fisiológicas”. Baseado na morfologia das membranas que constituem a barreira inter-hemática, classificou as placentas e essa classificação está sendo utilizada até hoje com algumas modificações (KAUFFMANN; BURTON, 1994; LEISER; KAUFFMAN, 1994; WOODING; FLINT, 1994).

A placenta corioalantóide pode ser classificada:

- Segundo a forma: **difusa** – vilos recobrimdo a superfície (suínos e eqüinos); **cotiledonária** - vilos coriônicos agrupados (ruminantes); **zonária** – vilos distribuídos em uma região equatorial (carnívoros) e **discóide** – vilos restritos a um ou dois discos (roedores, insetívoros e primatas);
- Segundo o modelo de interdigitação materno-fetal: **pregueada** (suínos, marsupiais); **lamelar** (carnívoros); **vilosa** (ruminantes e eqüinos); **trabecular** (alguns primatas); **labiríntica** (roedores, insetívoros, morcegos, e alguns primatas);
- Segundo o número de camadas da barreira materno-fetal: **epiteliocorial** – não há remoção de camadas (suínos e alguns ruminantes, equinos, lêmures); **sinepiteliocorial** (WOODING, 1992) – células do trofoblastos migram e fundem-se com células do epitélio uterino (ruminantes); **endoteliocorial** – epitélio uterino removido e o tecido conjuntivo em contato com o cório (insetívoros, morcegos, preguiças, alguns carnívoros) e **hemocorial** – todas as camadas do tecido materno são removidas (roedores e coelhos);
- Segundo o arranjo vascular: **fluxo concorrente** – sangue materno e fetal em mesmo sentido; **fluxo contra-corrente** – sangue materno e fetal em sentidos opostos; **fluxo corrente cruzada** – mistura do fluxo concorrente e corrente cruzada (carnívoros); **fluxo multiviloso** (primatas).

Stewart (1993) afirmou que as membranas extra-embriônicas dos amnionas eram partes estruturais com importância substantiva na ontogênese do organismo e que o saco vitelínico, sendo a primeira destas estruturas a se desenvolver, tinha uma função importante no regulamento e mobilização da nutrição para o embrião de

espécies ovíparas, e adicionalmente contribuiu para trocas materno-fetais em muitas espécies vivíparas.

Leiser e Kaufmann (1994) através de comparações entre diversos grupos de mamíferos descreveram das estruturas placentárias as seguintes membranas fetais: cório, âmnio, saco vitelínico e alantóide, como sendo estruturas membranosas diretamente relacionadas com o desenvolvimento placentário. O cório correspondia a uma camada epitelial derivada da parede blastocística externa, que correspondia ao trofoblasto, e nunca desenvolve vasos. O âmnio correspondia a uma camada epitelial com função de suporte que rodeia o embrião ou feto em desenvolvimento. O saco vitelínico consistia em uma camada de epitélio endodérmico vascularizado por vasos vitelínicos. Por último o alantóide, formado por mesênquima ricamente vascularizado que se conectava ao cório parcial ou completamente para formar a circulação embrionária, formando a placenta corioalantóica de grande número de mamíferos.

Evans e Sack, (1972) estudaram em mamíferos de laboratório e domésticos o desenvolvimento embrionário através da análise da curva de crescimento, dos aspectos externos de embrião ou de feto e referências selecionadas a respeito do desenvolvimento embrionário. Barbella (1987) estimou o período da prenhez, através da comparação entre o comprimento fetal e o peso do feto ou embrião, ou seja, para fetos de tamanhos 4,5; 15,0; 17,0; 19,5 e 21,5 cm correspondem respectivamente a 60, 90, 100, 120 e 140 dias de prenhez.

### 3.4 PLACENTA EM ROEDORES

De um modo geral a placenta de roedores pôde ser classificada como discoidal, labiríntica e hemocorial (MOSSAN, 1987). Os roedores da sub-ordem dos histicomorfos, como a guinea-pig e a capivara, possuíam placenta do tipo hemocorial e uma camada simples de sinciciotrofoblasto na barreira interhemática (LUCKETT; MOSSAN, 1981). Segundo Carter e Enders (2004), a placenta de roedores e lagomorfos foram classificadas como discoidal ou esférica, e com área labiríntica onde havia desenvolvimento da zona esponjosa onde ocorriam trocas

sangüíneas. A ordem dos roedores é rica em varias espécies, porém apenas um pequeno número de placenta foi descrito.

Particularmente em úteros de roedores de laboratório em início da prenhez, a luz do útero mudou de uma forma irregular para uma luz com criptas na mucosa, com orientação antimesometrial-mesometrial antes do blastócito anexar-se ao epitélio luminal, iniciando uma resposta decidual antes mesmo do trofoblasto alcançar a lâmina basal do epitélio uterino (DANTER; LEISER; KAUFMANN, 1988).

A placenta da capivara a termo, estudada por Miglino et al. (2002) estava localizada na região mesometrial e caracterizava-se como discoidal ou globular e com lobulação proeminente.

Roberts e Perry (1974) fizeram uma revisão comparando placentas entre os histricomorfos *Cavia porcellus*, (guinea-pig) *Galea musteloides* (cuis) e *Erithizon dorsatum* (North American porcupine) e relataram que a inversão completa ocorreu após a implantação. Todos os histricomorfos estudados possuíam placenta discoidal, hemocorial, labiríntica e com desenvolvimento de subplacenta.

Kaufmann e Davidoff (1977) descreveram a placenta do guinea-pig como sendo discoidal, hemocorial. No meio de gestação a placenta constitui-se de 3 componentes: placenta principal, haste placentária com a subplacenta, placenta vitelina e a decídua.

Adamson et al. (2002) analisaram em camundongos a interação entre a unidade fetal placentária com a vascularização uterina a nível molecular, relatando que este estudo tem sido dificultado pela falta de conhecimento da anatomia da circulação placentária e das relações temporais e espaciais entre as células trofoblásticas e a vascularização.

Sobre os roedores histricomorfos sul-americanos como a paca, a cutia (*Dasyprocta aguti*), a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e o mocó (*Keratum ruperis*) entre outros, foram realizados alguns estudos. Na cutia a placenta em terço médio e final de prenhez foi descrita como tendo implantação na região mesometrial e com forma discóide, sendo conectada por uma mesoplacenta (RODRIGUES et al., 2003).

### 3.4.1 Decídua Capsular

Welsh e Enders (1985) comentaram que as células da decídua nos ratos na porção antimesometrial eram binucleadas e as da face mesometrial uninucleadas, pequenas e irregulares na forma. Lateralmente as células deciduais estavam em expansão os vasos “sinus”, que têm quantidade massiva de glicogênio.

Enders e Welsh (1993) através da comparação de três grupos de placentação hemocorial, sendo estes roedores, primatas e armadilhos, descrevem que no camundongo a presença do blastócito desencadeou modificações no lúmen uterino, para facilitar a penetração do trofoblasto e caracterizava-se pela presença de apoptoses. A placenta foi classificada como hemocorial, quando apenas uma camada de trofoblasto se interpunha entre o sangue extravasado na lacuna e o endotélio capilar.

Wooding e Flint (1994) inicialmente descreveram a decídua como a parte materna do endométrio, sendo que a zona inicial produzia uma faixa semicontinua entre o trofoectoderma e o miométrio. As áreas mais proeminentes nos estágios iniciais de prenhez variavam consideravelmente na extensão. As células deciduais mesometriais foram invadidas nas áreas de interações feto-maternal durante a invasão do trofoblasto para formar a placenta hemocorial. A área das células deciduais aumentava rapidamente do lúmen uterino para fora do miométrio, e pôde ser visualizada a célula decidual através da reação PAS. O máximo desenvolvimento da população da decídua ocorreu em início de prenhez, eventualmente ocupava a maior parte do estroma uterino ao redor do concepto no camundongo. A decídua formou-se em roedores através das células do estroma e caracterizava-se por envolver-se no crescimento da placenta, freqüentemente ocorrem em trofoblasto e seus derivados, como as células gigantes.

Abrahmansohn (1983) descreveu nas camundongas a decídua compacta com algumas diferenças morfológicas observadas em varias células, em dias de gestacionais diferentes. O processo de decidualização ocorria no estroma subepitelial junto ao miométrio. O crescimento ocorreu pelo resultado de mitoses, que aumentavam de volume para transformar-se em novas células. As células intermediárias, ou seja, pré-deciduais eram células novas que sofreram modificações, e possuíam morfologia similar a das células do estroma.

Particularmente sobre a decídua foi descrito em camundongos, que a abundância de junções e o restrito espaço intercelular favoreceu as suposições sobre o papel da decídua como barreira para a invasão de trofoblasto e para a migração de células envolvidas na resposta imunológica. A involução da decídua antimesometrial iniciou no 7º dia de prenhez, essa observação morfológica talvez seja devido a ação lisossômica. A importância da decídua e suas funções com respeito ao embrião, à mãe e ao inter-relacionamento entre estes dois indivíduos são mal conhecidas.

A decídua mesometrial em camundongas foi descrita por Vercruyssen et al. (2006) por estar sempre incluída no miométrio ou no triângulo mesometrial. No 18º dia de prenhez, a decídua localizava-se em sítios de tamanho menor e mostrava-se pouca degeneração. No dia 21º dia, grande parte do tecido da decídua estava necrótica, com exceção da área ao redor do triângulo mesometrial.

No endométrio decidualizado de paca foi possível distinguir o limite bem delimitado do endométrio comprometido e do endométrio íntegro. O perímetro era formado por uma camada espessa de células deciduais musculares lisas, não sendo identificadas células com fenótipo de trofoblasto, e os vasos sanguíneos apresentaram parede de revestimento endotelial (BONATELLI, 2005).

#### 3.4.2 Placenta Vitelínica e Âmnio

A importância do saco vitelínico como órgão placentário hematopoiético foi bem conhecida nos roedores, mas o mesmo não acontece nos mamíferos domésticos, onde as informações eram bastante escassas (MOSSMAN, 1987). O saco vitelínico possuía papel principal no desenvolvimento embrionário de todos os mamíferos, em roedores servia como a principal membrana materno-fetal para mudanças ao longo da gestação (GULBIS et al., 1998) e sua inversão parcial ou total suportava o desenvolvimento inicial do embrião e persistia até o final da prenhez (CARTER; ENDERS, 2004).

A inversão do saco vitelínico foi um dos fatores mais marcantes nas membranas fetais dos roedores. Este fato era conhecido na maioria das espécies e provavelmente ocorria naquelas em que isto ainda não foi estudado. Uma forma

primitiva de inversão foi observada em coelhos, tatus, e em alguns insetívoros e morcegos, mas nos roedores este fato era marcante (MOSSMAN, 1987).

Fischer (1971) estudou a placentação no castor americano (*Castor canadensis*) descreveu que o saco vitelínico sofria inversão tardiamente e encontrava-se provido de sangue por artérias vitelínicas grandes, e o âmnio apresentava-se pregueado.

Stewart (1993) relatou o saco vitelínico como sendo a primeira das estruturas extra-embrionárias a se desenvolver, com uma função importante no regulamento e na mobilização da nutrição do embrião de espécies ovíparas e que adicionalmente contribuía para as trocas materno-fetais em muitas espécies vivíparas.

Segundo Carter e Enders (2004), a invasão parcial ou total do saco vitelínico suporta o desenvolvimento inicial do embrião e persiste até o final da gestação.

De acordo com Mossman (1937) o saco vitelínico podia tornar-se completamente vascularizado e persistir como uma estrutura relativamente grande, ou então, ser completamente vascularizado, mas tornar-se extremamente reduzido ou vestigial em fases adiantadas da gestação e por último podia ser completamente invertido.

Na guinea-pig, no 14º dia de prenhez, parte da estrutura do saco vitelínico estava próxima à placenta, apresentando células colunares altas. As células da membrana apical possuíam números microvilos, que com o avançar da gestação alteravam variando de forma e profundidade as invaginações. No 21ª dia, a placenta vitelínica se diferenciava apenas estruturalmente quando comparada com há 14º dia, pois seus vilos estavam mais dobrados, achatados, ampliados e parte deles ramificados. Existiam diferenças no suprimento vascular e estrutural, entretanto, entre os vilos havia um espaço sobre o endoderma cobrindo a superfície da placenta. Os vilos encontravam-se agrupados perto do ectoderma ectoplacental sobre a superfície da placenta (KAUFFAMN; DAVIDOFF, 1977).

Na paca a placenta vitelínica visceral estava fixada na margem lateral da placenta principal com numerosas projeções digitiformes com complexo de dobras e vilos, ramificadas com células endodérmicas cujos núcleos se posicionavam em sua porção apical. A placenta vitelínica parietal localizava-se na periferia do disco placentário, revestida por células endodérmicas e composta por células trofoblásticas diferenciadas, classificadas como espongiotrofoblasto. A placenta vitelínica visceral, estava fixada na margem lateral da área fetal da placenta da paca,

expôs um complexo de dobras e vilos, que exibiam numerosas projeções digitiformes, sendo estas formadas por um eixo mesênquimal revestido por epitélio simples com células prismáticas altas. A placenta a termo não apresentou espongiotrofoblastos, que foram substituídos por tecido conjuntivo (BONATELLI et al., 2006).

A placenta vitelínica parietal do mocó estava conectada ao redor do disco placentário e lateralmente aderida estava o epitélio pseudoestratificado. A membrana de Reichert's localizava-se abaixo da camada de espongiotrofoblasto e sinciotrofoblasto. Numerosos microvilos eram projetados entre os espaços celulares, contínuos com a cavidade uterina. A placenta vitelínica visceral localiza-se perto da placenta corio-alantoide, apresentando um padrão elaborado de ramificações vilosas, o epitélio era composto de células com forma irregular, com núcleo situado basalmente (OLIVEIRA et al., 2006).

Miglino et. al. (2002) analisaram 11 placentas de termo de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) verificando que a placenta vitelínica e a corioalantoidiana coexistem juntas até o final da prenhez.

### 3.4.3 Placenta Principal

Na maioria das placentas dos roedores, o labirinto e a zona esponjosa formaram camadas distintas. Os lóbulos representavam as áreas e troca, e eles estavam separados por trofoblastos (LUCKETT; MOSSAN, 1981).

Kaufmann e Davidoff (1977) descreveram que a placenta de termo do guinea pig formava um espesso disco oval, e o saco vitelínico inseria-se na superfície fetal da placenta, acima do endométrio, de forma que a placenta possui 3 camadas recobrando-a, consistindo no epitélio do saco vitelínico externamente (o endoderma ectoplacentário, a membrana de Reichert's, e a camada de células gigantes internamente. Na superfície fetal, sem inserção do saco vitelínico, a placenta principal possuía uma simples camada de epitélio amniótico e algum tecido conjuntivo. Particularmente a placenta principal podia ser dividida nas áreas de sincício não capilarizado (sincício marginal e sincício interlobar) e de sincício capilarizado (labirinto). A placenta apresentava uma estrutura tipicamente lobulada

divididos em área de labirinto e de interlóbulo. A placenta discóide estava conectada a parede do útero pelo tronco placentário consistindo principalmente pela subplacenta rodeada pela zona juncional.

Os autores continuaram descrevendo que ao redor do 17º dia de prenhez a decídua capsular, que estava externa ao epitélio do saco vitelínico, tornou-se mais e mais fina e finalmente desintegrou-se completamente na 2ª metade da gestação, assim o epitélio do saco vitelínico entrou em contato com a decídua parietal, da face anti mesometrial. Já ao redor do 16º dia de prenhez a estrutura lobar da placenta já estava formada, consistindo de lacunas sanguíneas materna dentro de trabéculas sinciciais grossa com aspecto de favo-de-mel com citoplasma basófilo.

Wynn (1964) estudou a placenta de guinea pig entre os dias 16 a 69 (término) dias gestacionais, e sugeriu que a decídua estava relacionada com as atividades endócrinas. O papel da decídua era a nutrição do trofoblasto e limitar a invasão do trofoblasto.

Hillemann e Gaynor (1961) analisaram algumas placentas de termo do histricomorfo nutria (*Myocastor coypus*), sendo esta alantóica, com fixação mesometrial, discóide, com tendência a ser alongada paralelamente ao útero, e com pedículo no lado da decídua basal. O epitélio uterino completava a linha do lúmen uterino, com exceção da área restrita muito ocupada por veias deciduais e no pedículo basal. O ectoderma amniótico era formado por um epitélio escamoso cúbico simples, com núcleos ovóides ocupando posição central da célula, não demonstrando evidência de que fosse vascularizado próximo ao disco e nem por vasos vitelínicos.

Hillemann e Gaynor (1961) citaram que morfologicamente a placenta da chinchila e a porco-espinho eram semelhantes, sendo do tipo córioalantóide com lóbulos e labirintos com disposição complexa. Em cada lóbulo puderam identificar além de formações periféricas, um labirinto intermédio e uma zona central. Descreveu também que o âmnio estava inserido ventralmente na superfície fetal da placenta e abrigava duas artérias e uma veia umbilicais, além de uma artéria e uma veia vitelínicas.

Rodrigues et al. (2006) descreveram que a placenta principal da cutia apresentava regiões distintas; centro lobular, labirinto e interlóbulo. No centro do lóbulo placentário encontrou-se a artéria materna e a veia fetal. O interlóbulo era formado por trabéculas de sinciótrofoblasto e pela artéria fetal e veia materna. O

labirinto, região de maior intimidade entre os tecidos fetal e materno, estava constituído por capilares fetais e lacunas maternas delimitadas por sinciótrofoblasto colunar, que estavam dispostos paralelamente entre si e radialmente do centro para a periferia do lóbulo. O fluxo sanguíneo fluía do interlóbulo para o centro do lóbulo, ou seja, centripedamente, enquanto que o fluxo materno fluía no sentido contrário e, portanto, centrifugamente. No labirinto, os resultados microscópicos e microvasculares sugeriram um modelo de fluxo sanguíneo do tipo contracorrente e, em algumas regiões, o modelo de fluxo do tipo corrente cruzada. Avaliaram após utilizar técnicas de preenchimento vascular e corrosão, nas duas artérias que conduziam sangue venoso do feto para a placenta, que estas ramificam-se sucessivamente na placenta, especificamente no interlóbulo, com trajetória sinuosa contornando e penetrando nos lóbulos, que deram origem na seqüência, à difusa rede de capilares arteriais fetais paralelamente arranjados. Em corte sagital mediano, identificou duas regiões distintas, a placenta principal com coloração avermelhada ocupando a maior parte da circunferência placentária, e a subplacenta com coloração esbranquiçada localizada no ápice do cone e com íntimo contato com o tecido materno.

De acordo com Miglino et al. (2002) a placenta estava dividida em lóbulos, representados por áreas de labirinto, trofoblasto interlobular e mesênquima fetal. As regiões de interlóbulos possuíam sinciciotrofoblasto com citoplasma basófilo. Artérias fetais foram encontradas no interlóbulos.

Bonatelli et al. (2006) observaram que histologicamente a placenta era formada por labirinto e interlóbulo. Estes eram compostos por lóbulos, divididos em três regiões distintas: o centro do lóbulo, labirinto e interlóbulo. Na região do centro verificou-se a presença de artérias e veias, e na região periférica, denominada de labirinto, as lacunas sangüíneas e os capilares estavam em íntimo contato.

Oliveira et al. (2006) classificaram a placenta de mocó (*Keratum ruperis*) como hemocorial, de subtipo hemomonocorial, com fluxo sanguíneo contracorrente materno fetal. Região entre os lóbulos placentários, apresentava área de mesenquima que separava os lóbulos placentários, uns dos outros, apresentando um aspecto menos organizado e com maior eosinofilia que o sinciotrofoblasto do labirinto. Além disso, no interlóbulo, era mais evidente uma maior distancia entre os núcleos que constituíam as células de natureza sinciciais.

Na capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e no mocó (*Keratum ruperis*) ambos em terço final de prenhez, a circulação da região dos lóbulos e interlóbulos placentários comportava-se da seguinte forma: no centro do lóbulo possuía artéria materna e veia fetal. As artérias maternas apresentam túnica muscular com disposição em duas camadas, sendo a mais interna com fibras musculares lisas dispostas preferencialmente em sentido longitudinal e a camada mais externa com fibras dispostas de maneira circular. As veias fetais eram constituídas basicamente por células endoteliais de ampla superfície, à medida que as veias tornavam-se maiores adquirem uma discreta túnica muscular. No interlóbulo estava presente artéria fetal e veia materna. A partir da confluência das lacunas maternas irregulares, delimitada por trabéculas do sinciotrofoblasto, e que percorriam o interlóbulo, estes vasos dirigiam-se em direção ao pedúnculo da placenta nos mocós de onde atravessavam a parede uterina para alcançar o mesométrio (MIGLINO et al., 2002).

#### 3.4.4 Subplacenta

Com relação a subplacenta, este termo foi introduzido por Minot<sup>1</sup> (1989 apud DAVIES et al., 1961b, p. 457) para uma estrutura na placenta do coelho, porém usada mais tarde para a cobaia como uma estrutura diferente, mas de localização semelhante (DAVIES et al., 1961b). Além disso, a função da subplacenta nos histricomorfos ainda era desconhecida (LUCKETT; MOSSAN, 1981).

De acordo com Amoroso (1952) a subplacenta, uma estrutura de considerável tamanho, estava situada no fundo da escavação central do disco placentário, sendo compostas por células gigantes que eram o resultado de uma peculiar transformação da camada sincicial periférica.

Segundo King (1982) todos os roedores caviomorfos, examinados em seu estudo, possuem uma estrutura interessante conhecida como subplacenta, localizada profundamente ao disco da placenta principal. Este autor observou também que a subplacenta surgia no início da gestação e, depois regredia durante os últimos estágios de desenvolvimento.

---

<sup>1</sup> MINOT, C. S. Uterus and embryo. I Rabbits. **Journal of Morphology**, v. 2, p. 341-460, 1989.

Em cobaias a subplacenta foi classificada como uma zona especializada do cório, derivada da proliferação do ectoderma fetal no assoalho da “escavação” central ou centro mesodermal da placenta cório-alantóica. Consta-se de lamelas de citotrofoblasto que cercavam a superfície do mesênquima fetal cório-alantóico, aparecendo e dando origem ao trofoblasto sincicial na superfície materna. O sincício da subplacenta diferia da placenta corio-alantóica, pois era uma região exclusivamente vascularizada por meio de vasos de origem fetal e continha, em vez de canais de sangue maternos, um sistema de espaços lacunares preenchidos de material amorfo (DAVIES et al., 1961a). A subplacenta do guinea pig entre 25° ao 45° dia de prenhez, mostrou um aumento progressivo em espessura e maior complexidade das lamelas citotrofoblásticas. O sinciotrofoblasto era mais compacto na camada citotrofoblástica, e se tornava mais vacuolizado em direção à decídua e também na margem da subplacenta. A zona de transição ou intermediária era muito modificada pela condensação e fusão dos núcleos sinciciais, e formava massas intensamente basofílicas e irregulares (DAVIES et al., 1961b).

Roberts e Perry (1974) descreveram que em roedores o desenvolvimento foi marcado por um aumento na espessura das lamelas de citotrofoblasto que formou o assoalho da concavidade denominada “escavação central”, este evento ocorreu na fase inicial do desenvolvimento da subplacenta da viscacha (*Lagostomus maximus*) e foi observado em fases mais tardias do desenvolvimento subplacentário no cuis (*Gálea musteloides*), chinchila (*Cavia porcellus*) e coypu (*Myocastor coypus*). No final da prenhez a regressão da subplacenta ficava evidente pela redução em espessura do citotrofoblasto e a pela ausência de figuras mitóticas, embora a subplacenta ainda era evidente na placenta de termo e, portanto, a degeneração raramente era completa.

Hillemann e Gaynor (1961) descreveram a subplacenta da nutria (*Myocastor coypus*) como sendo uma área lobular grande, sem cavidade, que persistia até o final da prenhez e ocupava uma área central no disco placentário. Para estes autores a subplacenta não foi considerada como um órgão de troca de substâncias materno-fetais, portanto, a vascularização desta região parecia servir somente para nutrição do tecido da subplacenta.

Rodrigues et al. (2006) observaram que a subplacenta da cutia estava localizada próxima a placenta principal, delimitada por tecido mesênquimal de origem fetal, região esta chamada de zona transição. Neste mesênquima foram

encontrados vasos sanguíneos com diferentes calibres, parede delgada e recobertos por endotélio. A subplacenta estava recoberta por um tecido amorfo, próximo ao estroma endometrial, contendo resíduos de células degeneradas. Lateralmente foram encontrados vasos sanguíneos, onde suas paredes não apresentavam endotélio e eram revestidas por massa de células gigantes ou multinucleadas. Microscopicamente, a subplacenta apresentou-se organizada em projeções lamelares irregulares, as quais possuíam um eixo de tecido mesênquimal fetal, com vasos sanguíneos do tipo venoso de pequeno calibre e por capilares sanguíneos indiferenciados. Este eixo estava recoberto por uma camada contínua de citotrofoblasto caracterizado por células de formato colunar, sendo mononucleadas, com núcleos esféricos, citoplasma eosinófilo e pólo basal voltado para o mesênquima. Acima desta camada de citotrofoblasto, estava localizado o sinciotrofoblasto, classificado como massas celulares multinucleadas, onde apresenta núcleos de forma e tamanho variado, citoplasma basófilo e limites celulares indefinidos. Na região entre a decídua e a subplacenta, chamada de zona juncional, citou a presença de células trofoblásticas do tipo gigantes, multinucleadas, podendo estar isoladas ou agregadas.

A subplacenta de paca foi descrita por Bonatelli (2005) como uma estrutura cuneiforme, cuja base mantinha uma íntima relação com a placenta principal e seu ápice estava inserido no endométrio. Este aspecto foi observado a partir do terço médio da prenhez da paca e perdura até o final desta. A subplacenta consistia de estruturas lamelares com um eixo de tecido mesenquimal fetal, sobre o qual se apóiam as camadas de citotrofoblastos e dos sinciotrofoblastos. O sinciotrofoblasto estava em íntimo contato com os tecidos de origem materna, porém nas regiões mais internas da subplacenta, não foi possível distinguir o tecido materno e o espaço interlamelar ocupado predominantemente pela massa de sinciotrofoblasto entremeada por tecido amorfo acelular. Nas em terço médio de prenhez o espaço interlamelar foi ocupado predominantemente pelo sinciotrofoblasto, porém em algumas áreas possuía material amorfo e restos celulares de origem provavelmente materna. A vascularização comprovou a ausência de vasos de origem materna na subplacenta e demonstrou uma irrigação oriunda da artéria fetal que após sua capilarização, dirigia-se para os lóbulos da placenta principal. Observou na zona de transição entre a subplacenta e decídua basal, células trofoblásticas multinucleadas isoladas ou em agregados espalhadas

no tecido endometrial e junto aos vasos sanguíneos. Na zona juncional, entre subplacenta e lamelas, as células trofoblásticas gigantes também estavam presentes em perfilados agregados descontínuos que à medida que se afastaram da subplacenta tornaram-se mais amplos. A presença de células trofoblásticas não se restringia ao interior da subplacenta. Encontrou-se em animais de terço médio e final de prenhez a marcação de PAS fraca ou ausente para citotrofoblasto, enquanto que positiva para as células sinciciais no interior da subplacenta. Sugeriu a autora que a subplacenta estivesse envolvida na transferência de nutrientes da decídua para o feto.

Oliveira et al. (2006) observaram que a subplacenta de mocó era um órgão acessório que permanecia durante toda gestação, embora possa apresentar áreas de degeneração a termo. A subplacenta era composta por lóbulos e por trofoblasto de natureza sincicial e celular. Demonstrou em seu estudo a localização das células sinciciotrofoblásticas da subplacenta centralmente aos lóbulos, onde possuíam núcleos mais regulares que os do labirinto e aspecto irregular, com áreas de degeneração celular.

#### 3.4.5 Imunolocalização e Citoqueratina, Vimentina e Alfa-Actina de Músculo Liso

Na paca, Bonatelli (2005) observou que a imunolocalização para citoqueratina apresentava intensa reação positiva para as células localizadas no interior da placenta, na subplacenta e nos agregados celulares distribuídos junto aos tecidos endometriais nas regiões de interface com a subplacenta. Foram obtidos os seguintes resultados: vasos sanguíneos de grande calibre, marcação positiva para as paredes dos vasos sanguíneos; na subplacenta, reação positiva nas lamelas para citotrofoblastos e sinciotrofoblasto; células gigantes da região mais externa das lamelas da subplacenta; marcação com menos intensidade; massa amorfa, reação negativa.

Rodrigues et al. (2006) verificaram que a citoqueratina teve reação positiva para células localizadas na subplacenta. Para o citotrofoblasto e o sinciciotrofoblasto, a citoqueratina também teve reação positiva, mas com uma

menor intensidade nas células gigantes localizadas na região basal e lateral da subplacenta. A reação negativa estava relacionada à massa amorfa.

Miglino et al. (2002) observou que o citotrofoblasto foi fracamente marcado imunopositivo para citoqueratina. As lamelas o mesênquima para vimentina forma imunomarcadas. Abaixo da subplacenta A subplacenta da paca pode ter uma estrutura similar a da capivara. Esta área não pôde ser claramente separada da área da placenta por uma camada e mesênquima e de citotrofoblastos fracamente marcados ou não para citiqueratina. A subplacenta da cutia foi examinada através das histologia e descoberto que tem ma estrutura similar a da capivara e da paca. A citoqueratina positiva foi para os vasos maternos na mesoplacenta.

Vercruyssen et al. (2006) avaliaram em camundongos a invasão intersticial do trofoblasto nos compartimentos maternos entre os dias 15 e 21 de prenhez, usando imunolocalização para a citoqueratina. O trofoblasto obteve reação positiva em locais onde ocorreram à implantação, bem como no trofoblasto endovascular e nas células intersticiais que estão invadindo a decídua e o triângulo mesometrial.

A vimentina é um proeminente constituinte do citoesqueleto e do envelope nuclear de células derivadas do mesênquima, como é o caso das células endoteliais (STEINERT; ROOP, 1988). Bonatelli (2005) observou a reação positiva de vimentina para revestimentos endoteliais dos vasos sanguíneos da região da placenta principal e na subplacenta, e verificou reação negativa nos leitos vasculares que permeiam o tecido materno da interfase subplacenta-endométrio. Já na cutia (RODRIGUES et al., 2006) os relatos demonstram que na subplacenta havia reação positiva para vimentina no endotélio vascular.

No *Mustela vison* houve co-localização da vimentina e da citoqueratina de músculo liso. O útero vazio apresentou intensa reação para vimentina nas células subepiteliais e periglandulares do tecido conjuntivo. No início da prenhez estas células possuíam um bom desenvolvimento da rede capilar e mostraram intensa imunoreação para a vimentina nas células do tecido conjuntivo. Porém, no final da prenhez, a vimentina esta localizada no endotélio dos vasos maternos, sem nenhum traço nas células do tecido conjuntivo materno. No final da gestação a reação para vimentina foi intensa e restrita às células endoteliais e células periendoteliais de veias maternas, incluindo artérias, arteríolas e capilares sinusóides. No compartimento fetal da placenta, as células mesenquimais do corioalantóide e os vasos, incluindo as células endoteliais, exibiram intensa reação para vimentina ao

longo da gestação, e reação similar foi manifestada do saco vitelínico. O miométrio, representando o controle positivo da reação, apresentou intensa reação positiva nas células musculares durante a gestação (WINTHER et al., 1999).

A actina é um microfilamento citoplasmático de células endoteliais e pericitos (BECK; D'AMORE, 1997). No *Mustela vision* a alfa-actina foi imunolocalizada em células do tecido conjuntivo endometrial em animais não prenhez. Durante a gestação áreas focais de tecido conjuntivo materno exibiram moderada reação positiva para a parede de vasos maternos e fetais, células mesenquimais fetais e vasos do saco vitelínico. No lado fetal as células endoteliais também foram positivas em contraste as células endoteliais de vasos maternos que não expressaram alfa-actina (WINTHER et al., 1999).

As precursoras das células deciduais estromais humanas possuíam a ultraestrutura similar ao miofibroblasto, o qual tinha origem mesenquimal. A vimentina pôde ser localizada em ambos os tipo celulares, bem como a alfa-actina de músculo liso (OLIVER et al., 1999).

Análises imunohistoquímicas, marcaram com vimentina a placenta principal de capivara, paca e cutia, onde foi possível demarcar a labirinto das áreas interlobulares. Os vasos fetais e mesênquima foram imunoreativos para vimentina. A citoqueratina foi positiva na capivara, cutia e paca para sinciciotrofoblasto do labirinto, enquanto apenas nos trofoblastos interlobulares estavam imunoreativos próximos aos vasos sanguíneos. Nem todo o labirinto trofoblástico estava citoqueratina positivo, apenas os que estavam próximos aos vasos maternos. A citoqueratina não marcou o endoderma o saco vitelínico. Vimentina foi positiva para o mesênquima. (MIGLINO et al., 2002).

## *4 Material e Método*

## 4 MATERIAL E MÉTODO

Neste capítulo foi descrito os procedimentos experimentais utilizados e a descrição dos animais utilizados neste trabalho. A metodologia empregada foi dividida em macro e microscopia.

### 4.1 ANIMAIS

As fêmeas abatidas de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (Figura 1) foram provenientes de criatórios comerciais autorizados pelo IBAMA, nos quais os animais estavam sob regime de criação extensivo, sem registro reprodutivo. Portanto, não se teve acesso a dados como número de gestações anteriores, média de filhotes ou idade das fêmeas. O sistema de captura nas propriedades não previu a separação de machos e fêmeas e, assim, no abate comercial, teve-se fêmeas prenhez.

Os abates foram realizados em 2006 no Frigorífico Panamby–Porã, com registro IBAMA nº57357 e CNPJ 01.610.652/0001-00. Todo procedimento experimental foi realizado com autorização do Comitê de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e com licença de conhecimento do IBAMA.

Após o abate dos animais e sua evisceração, foram analisados os conjuntos dos órgãos reprodutores femininos de 10 animais. Os cornos uterinos de cada fêmea foram observados e os prenhes (n=3) separados macroscopicamente dos não-prenhes (n=7). Um total de 09 placentas foram processadas e analisadas para a análise morfológica macro e microscópica.

## 4.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA

As fêmeas vazias tiveram os cornos uterinos mensurados no seu comprimento com fita métrica, fotografados e colhidos fragmentos para análise microscópica. Naquelas fêmeas em que a prenhez foram identificadas, os cornos uterinos foram incisados na face antimesometrial para exposição da luz uterina e da placenta.

Os parâmetros de cada placenta, tais como: localização, coloração, dimensões (com uso de paquímetro), forma, número de embriões, posição no corno uterino, foram estabelecidos. As placentas foram fixadas por imersão em formol 10% e dissecadas. O Crow-rump dos embriões foi aferido com paquímetro.



Figura 1 – Fotografia de capivara adulta

Foram coletados fragmentos da placenta das seguintes regiões: decídua basal e decídua capsular, subplacenta, labirinto, zona de transição, âmnio, placenta vitelínica parietal e placenta vitelínica visceral, onde foram fixados em formol 10%, tampão fosfato 0,1M pH 7,4.

### 4.3 MICROSCOPIA DE LUZ

Os fragmentos placentários das diversas áreas foram fixados por imersão de formol 10%, tampão fosfato 0,1M pH 7,4. Após a fixação, foram submetidos aos procedimentos de desidratação, diafanização e embebição (inclusão) em paraplast. Os blocos foram submetidos ao micrótomo automático (Leica, RM2155, cidade, estado país) em cortes de 05 µm. Sendo estes cortes corados em Hematoxilina-Eosina, Tricromio de Masson e reação histoquímica de Ácido Periódico de Shift (PAS). Todo o material analisado foi submetido à fotodocumentação em microscópio de luz (Olympus BX40) com uso do programa KS400, 3.4 (ZEISS, 2000).

#### 4.3.1 Reações de PAS (Ácido Periódico – Shiff)

Os cortes histológicos foram disparafinados e lavados em água corrente para hidratar. Sofreram tratamento com ácido periódico por 5 a 10 minutos. Após a fixação foram lavados 2 a 3 vezes em água destilada e tratados com o reativo de Shiff por 15 a 20 minutos. Foram contra corados com hematoxilina de Harris por 5 minutos e lavados em água destilada, e desidratados. Após a reação, os cortes foram contra corados com hematoxilina-eosina e processados para montagem permanente em bálsamo do Canadá. A reação de PAS foi utilizada para marcar glicogênio, miosina, ácido hialurônico, retículo, fibrina e membrana basal

#### 4.4 Imunolocalização da Citoqueratina, Vimentina e Alfa-Actina de Músculo Liso

As reações de imunohistoquímica foram realizadas em cortes de placenta de capivara incluídos em paraplast com o objetivo de imunolocalizar a alfa-actina de músculo liso (para identificação da parede muscular dos vasos sanguíneos); a citoqueratina (para identificação das células epiteliais e trofoblásticas) e a vimentina (para identificação do endotélio vascular, das células mesenquimais e do estroma da decídua).

##### 4.4.1 Citoqueratina e Vimentina

Para as reações de imunocitoquímicas utilizou-se os anticorpos primários anticitoqueratina policlonal de coelho (cód. PU&I-UP, Biogenex), anti-vimentina policlonal de cabra (cód. SC-1226, Santa Cruz Biotechnology, USA). Como anticorpo secundário, foi utilizado, kit LSAB® - HRP Peroxidase (K0690, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA).

Os cortes histológicos desparafinizados e hidratados foram equilibrados em tampão TRIS-HCL 0,1 M pH 7,4 e tratados com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,1% em tampão Tris-HCl 0,1M pH 7,4 durante 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, os cortes foram tratados com tampão citrato 0,1M pH 6,0 e irradiados em microondas de uso caseiro (Sanyo), na potência máxima (700MHz), três vezes durante três minutos. Os cortes foram, em seguida, equilibrados em tampão fosfato-salina (PBS) 0,1M pH 7,4 e tratados com leite desnatado a 2% em PBS por 20 minutos. As inclusões com anticorpos primários foram realizadas em câmara úmida durante 12 horas à temperatura de 0-4°C após esse período, os cortes foram lavados e incubados com os anticorpos secundários conjugados com peroxidase e revelados pelo sistema diaminibenzidina/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em tampão tris HCl pH 8,2. Os cortes foram contra-corados com Hematoxilina de Harris e montados com resina sintética – Entellan (Merck, Damstadt, Alemanha).

#### 4.4.2 Alfa-Actina de Músculo Liso

Os cortes histológicos foram desparafinizados em xilol, e na segunda passagem de etanol 100% os cortes tiveram a peroxidase endógena bloqueada em 3% $H_2O_2$  em etanol 100%, por 20 min. Estes foram então hidratados em concentrações decrescentes de etanol, e em seguida foram tratados com tampão citrato 0,1M pH 6,0 e irradiados em microondas de uso caseiro (Sanyo), na potencia máxima (700MHz), três vezes durante cinco minutos. Depois os cortes foram equilibrados em tampão fosfato-salina (PBS) 0,1M pH 7,4 onde bloqueio de proteínas foi realizado com o Dako Protein Block (X 0909, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) por 20 minutos. As inclusões com anticorpos primários actina de músculo liso anti-humano (clone 1A4, M 0851, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) foram realizados em câmara úmida durante 2 horas à temperatura ambiente. Após esse período, os cortes foram lavados e incubados com os anticorpos secundários conjugados com peroxidase Kit Dako LSAB (K 0690, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) por 15 min, seguido da streptoavidina do mesmo Kit por 15 minutos. A reação foi visualizada pela adição do AEC Kit (número de catálogo 00-2007, Zymed, South San Francisco, CA, USA), por 7-10 minutos, seguido de contra-coloração com hematoxilina e montagem em Faramount (DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA).

## *5 Resultados*

## 5 RESULTADOS

Os resultados obtidos representam a análise do útero de 10 capivaras adultas, sendo que destas 07 não estavam prenhes e 03 estavam no terço inicial de prenhez.

### 5.1 ÚTERO

O útero de capivara não-prenhe apresentava dois cornos uterinos ( $n=7$ ), com  $9,2 \pm 3,8$  cm e  $8,2 \pm 2,6$  cm, de comprimento para os cornos uterinos direito e esquerdo, respectivamente (Tabela 1), com orientação retilínea em direção aos ovários e rins. Caudalmente, cada corno uterino terminava de forma independente na cérvix uterina, esta era espessa, quando comparada com os cornos uterinos, e sua luz possuía uma prega completa cranialmente, que separava a luz em dois compartimento (Figura 2), a qual era incompleta caudalmente deixando a luz única. A cérvix, portanto possuía luz em Y e comunicava-se com a vagina através de um único óstio vaginal.

Tabela 1 - Comprimento (cm) dos cornos uterinos direito e esquerdo de capivaras não-prenhes - São Paulo - 2006

Número do animal	Corno uterino	
	direito	esquerdo
1	14	8.2
2	15.2	13
5	6.7	7.5
7	6.5	7.2
8	7.1	5.8
9	9	10
10	6.1	5.8
<b>Media <math>\pm</math> desvio padrão</b>	<b>9,2 <math>\pm</math> 3,8</b>	<b>8,2 <math>\pm</math> 2,6</b>

Os cornos uterinos estavam sustentados pelo mesométrio e vascularizados por ramos da artéria uterina, os quais se ramificavam de forma semi-penata antes de penetrar na parede uterina.

O útero da capivara não-prenhe era composto por 03 túnicas: mucosa, muscular e serosa. Na túnica mucosa o endométrio estava constituído por epitélio pseudoestratificado e pela lâmina própria formada de tecido conjuntivo e de glândulas tubulares simples. A túnica muscular estava composta pelo miométrio sendo a túnica mais espessa, onde identificou-se três camadas musculares distintas: a mais interna a *Stratum serosum*, a intermediária *Stratum vasculare*, sendo a mais espessa e mais vascularizada, e a mais externa denominada de *Stratum submucoum*, com feixes em disposição longitudinal (Figura 3). Já a túnica serosa revestia externamente a parede uterina e estava composta por um epitélio pavimentoso apoiado sobre uma faixa de tecido conjuntivo.

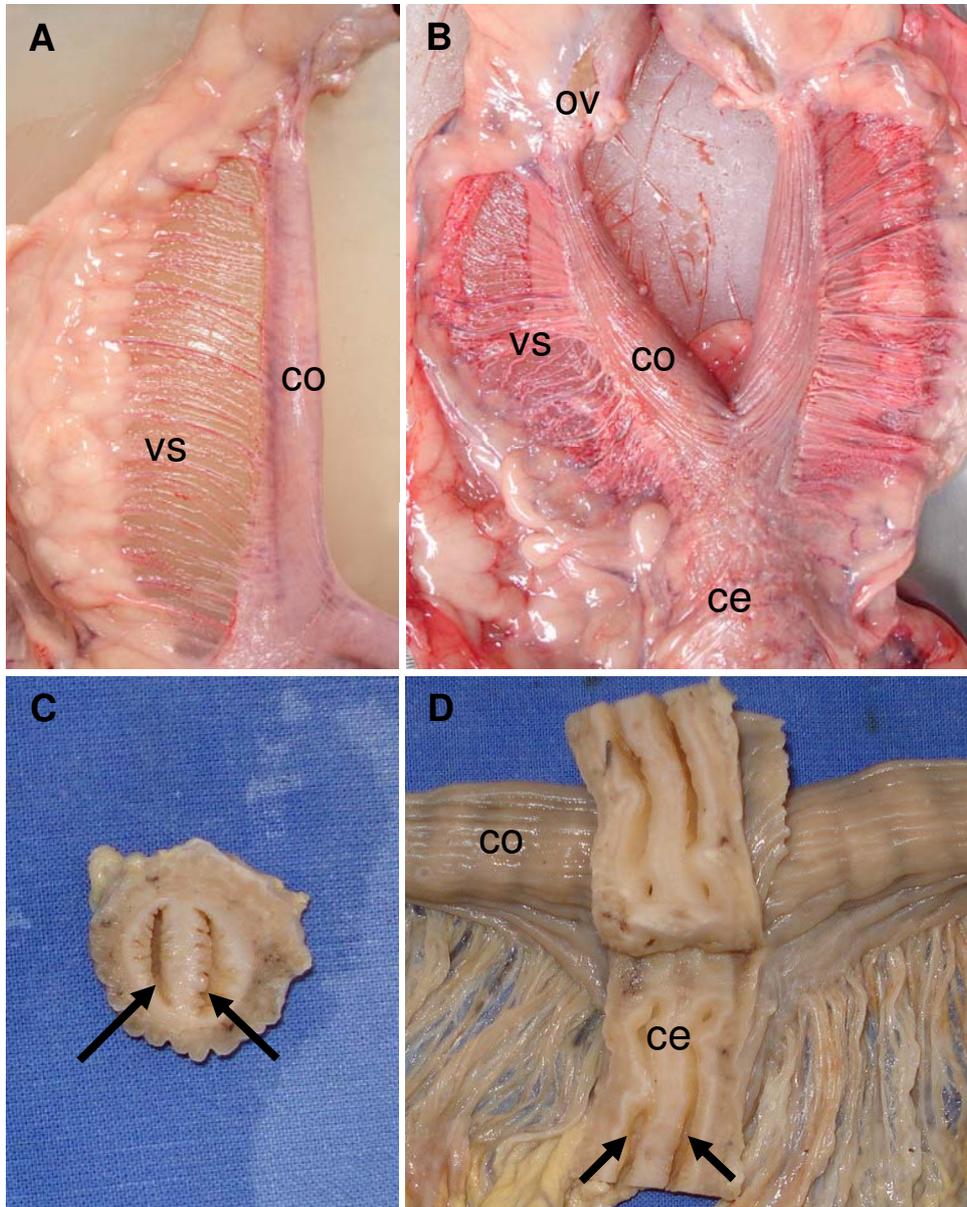


Figura 2 - Fotografias de útero “vazio” de capivara adulta. A-B) Notar a disposição dos vasos sangüíneos (vs) no mesométrio que sustenta os cornos uterinos (co) e os ovários (ov). Corte transversal (C) e longitudinal (D) da cérvix uterina (ce) evidenciando a cérvix dupla, caracterizada pela presença de septo entre elas, mas que se unem para formar um ostéo vaginal (setas)

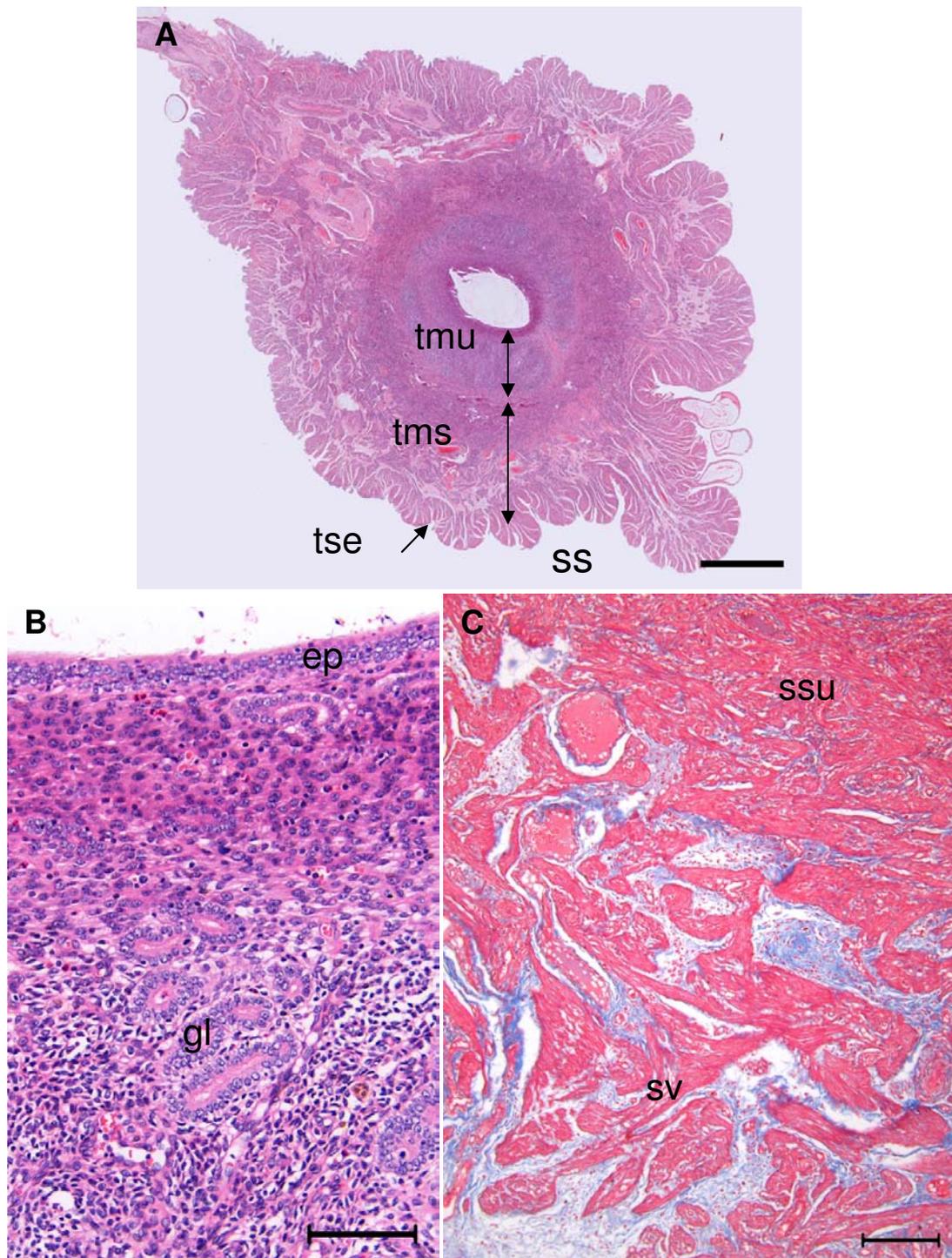


Figura 3 - Fotomicrografias do corno uterino “vazio” de capivara adulta. A) Corte transversal evidenciando as túnicas mucosa (tmu), muscular (tms) e serosa (tse). B) Túnica mucosa com epitélio pseudoestratificado (ep) e glândulas tubulares simples (gl) dispersas no conjuntivo. C) Detalhe da túnica muscular com o *Stratum serosum* (ss), *Stratum vasculare* (sv) e *Stratum submucosum* (ssu). Paraplast, HE (A,B), Tricromio de Masson (C). Barra: A) 1cm, B) 100 μm e C) 200 μm

Os úteros prenhes analisados apresentaram aumento de volume em áreas determinadas, e a abertura na face antimesometrial dos mesmos permitia identificar formações ovaladas inseridas na face mesometrial da parede uterina, variando em tamanho, correspondentes as formações observadas externamente (Figura 4). Cada uma destas formações ovaladas caracterizava-se por ser uma placenta isolada envolvendo um embrião.

## 5.2 PLACENTA E EMBRIÃO

Os 03 úteros de capivara prenhes analisados continham 02 fetos, 05 embriões e 02 fetos, para as Fêmeas 03, 04 e 06, respectivamente. O crow-rump e a análise macroscópica do exterior dos embriões e fetos sinalizavam que estas prenhez estavam em diferentes estágios de desenvolvimento (Tabela 2).

A Fêmea 03 possuía um embrião desenvolvido, com placenta e outro representado por uma massa de tecido amorfo que foi considerado como “em degeneração” distribuída um em cada corno uterino. Já a Fêmea 06 apresentou características semelhantes, com um embrião bem desenvolvido e outro em degeneração, porém ambos estavam no mesmo corno uterino. Em outro animal (Fêmea 04), observa uma placenta no corno uterino direito e quatro placentas no corno uterino esquerdo. Particularmente neste animal, com múltiplos embriões, as placentas mantiveram relações de proximidade entre si na face voltada para a placenta vizinha, porém, sem fusão ou compartilhamento de membranas fetais (Figura 4).

Tabela 2 - Posição no útero, número e comprimento dos embriões e fetos de capivaras - São Paulo - 2006

<b>Número da Fêmea</b>	<b>Corno uterino</b>	<b>Número do embrião</b>	<b>Crow-rump (mm)</b>
03	esquerdo	01	58,0
	direito	02	-
04	esquerdo	01	11,0
	esquerdo	02	10,9
	esquerdo	03	12,4
	esquerdo	04	11,4
	direito	05	12,0
06	direito	01	55,0
	direito	02	25,0

A análise do desenvolvimento embrionário comparada ao tamanho dos embriões e placentas permitiu classificá-los quanto a idade gestacional como sendo a Fêmea 04 a mais jovem entre aquelas estudadas e os embriões da Fêmea 03 os mais velhos.

Os embriões da Fêmea 04 possuíam crow-rump médio de 11,5 mm e formato de C fechado. Externamente as principais características observadas foram os somitos, os arcos faríngeos e a saliência pericárdico-hepática. Os membros torácicos e pélvicos estavam presentes, sendo os torácicos ligeiramente maiores que os pélvicos, posicionados lateralmente ao embrião próximos aos somitos. A flexura cervical estava evidente caudalmente a projeção cefálica em que se viam as vesículas encefálicas do tubo-neural por transparência. O cordão umbilical inserido no abdome dos embriões era visualizado, bem como uma fina e transparente membrana circundando todo o embrião, o âmnio.

Tanto no feto da Fêmea 06 (crow-rump de 55 mm) quanto no feto da Fêmea 03 (crow-rump de 58 mm) foram observados a pigmentação da retina visível através das pálpebras transparentes, o pavilhão auricular com abertura da orelha externa, a face desenvolvida com a delimitação do focinho e a boca definida, as

costelas e a área do fígado, vistos por transparência. Os membros eram longos, dobrados nos joelhos e cotovelos, com os 04 dedos das mãos e 03 dedos dos pés individualizados (Figura 5).

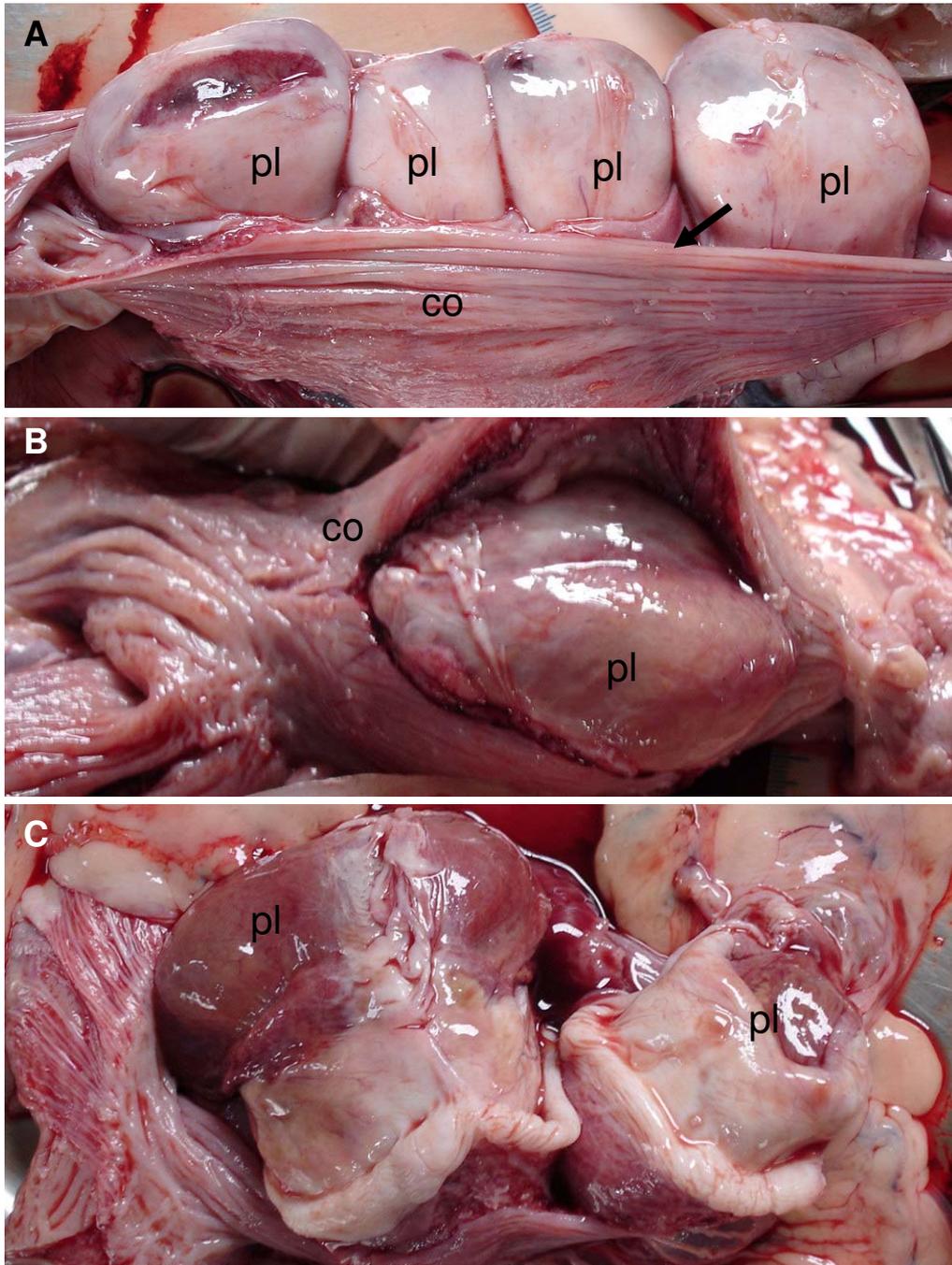


Figura 4 - Fotografias do corno uterino prenhe de capivara adulta a fresco. A) Vista lateral do corno uterino (co) da fêmea 04 após abertura para exposição das 04 placentas (pl) inseridas na face mesometrial do útero (seta). B) Corno uterino incisado na face antimesometrial permitindo a visualização da superfície da placenta da fêmea 03. C) Placentas da fêmea 06, notar a considerável diferença no desenvolvimento placentário entre ambas

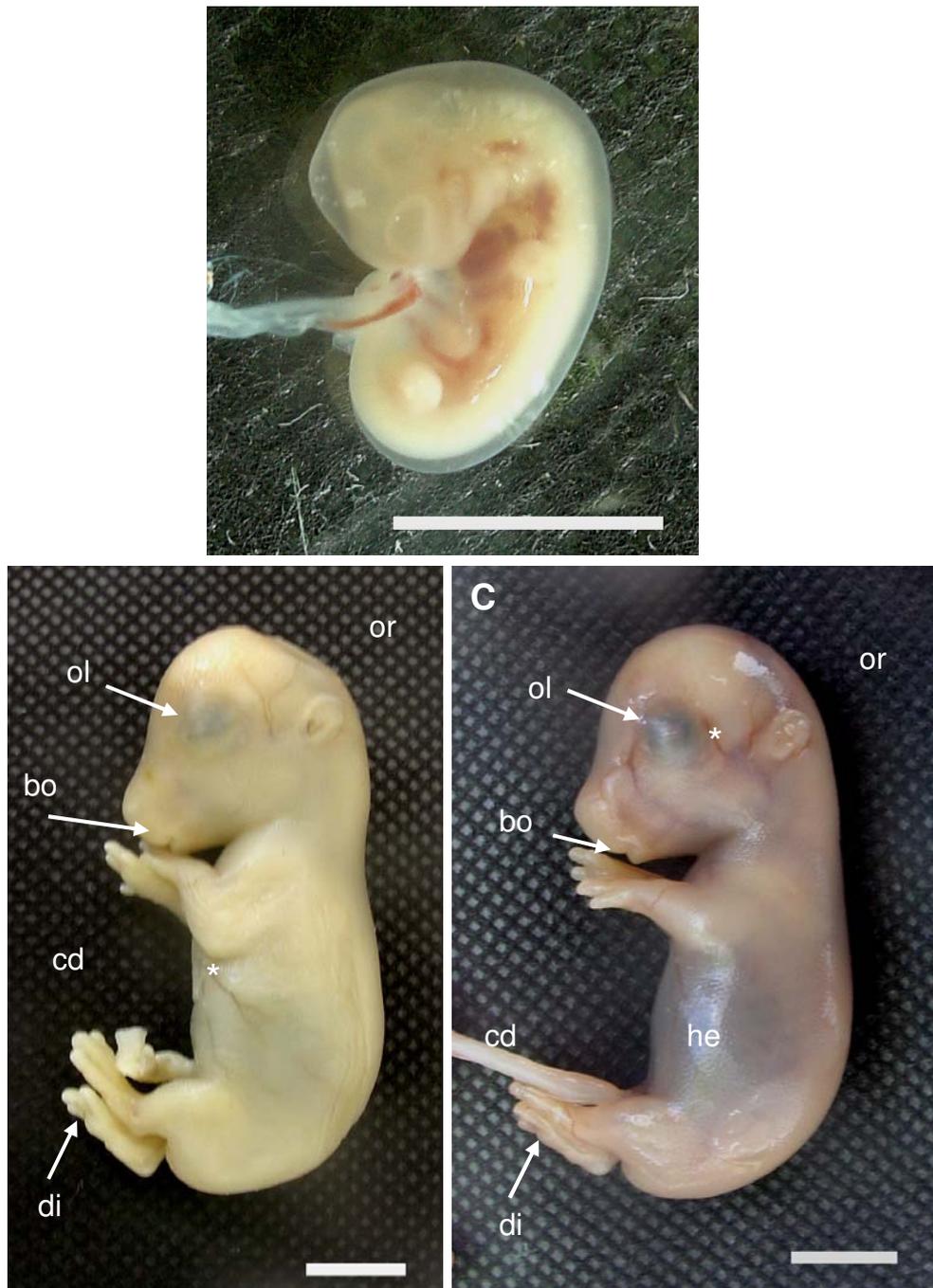


Figura 05 - Fotografias de embrião e feto de capivara em terço inicial de prenhez após fixação em formol. A) Embrião (12,4 mm) evidenciando a flexura cervical (fc), os arcos faríngeos (af), a região cardíaca (cor), os brotos dos membros torácico (mt) e pélvico (mp), a região cefálica (rc), o cordão umbilical (cd) e envolto pelo âmnio (am). Fetos (B) 55mm e (C) 58mm com morfologia externa semelhante em que observaram-se a pálpebra recobrindo o olho pigmentado (ol), o pavilhão auricular da orelha externa (or), a área hepática (he), a face desenvolvida com focinho e boca (bo) evidentes, membros desenvolvidos com dígitos individualizados (di), vasos dérmicos vistos por transparência (\*) e cordão umbilical (cd). Barra 10 mm

Ao corte transversal da formação representada pela placenta e seu embrião ou feto, internamente a **decídua capsular** voltada para a luz uterina, estes estavam envoltos por duas membranas delicadas, a **placenta vitelínica visceral** e o **âmnio**, e conectados através do cordão umbilical a uma massa com formato de cálice, a qual estava voltada para a face mesometrial, a **placenta principal**. Esta última área mantinha contato no sentido mesometrial com uma área menor esbranquiçada que se inseria na **decídua basal**, a **subplacenta**. A decídua basal continuava-se pela parede uterina (Figura 6).

### 5.2.1 Decídua Capsular

A decídua capsular correspondia a face de superfície da formação placentária projetada para a luz uterina em direção a face antimesometrial do corno uterino, com quem se conectava através de tiras esbranquiçadas inseridas em ambas as faces. Com coloração esbranquiçada nos embriões mais jovens, apresentava-se mais fina, delicada e transparente nos fetos.

Nos embriões da Fêmea 04, a decídua capsular possuía 5 mm de espessura e internamente coloração avermelhada e consistência macia e, após a fixação, este tecido adquiriu consistência esponjosa. Nas fêmeas 03 e 06 a decídua capsular era menos espessa (3 mm) e em alguns pontos transparente (Figura 7).

Histologicamente apresentava-se composta por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado e revestido por um epitélio simples cúbico baixo (Figura 8).

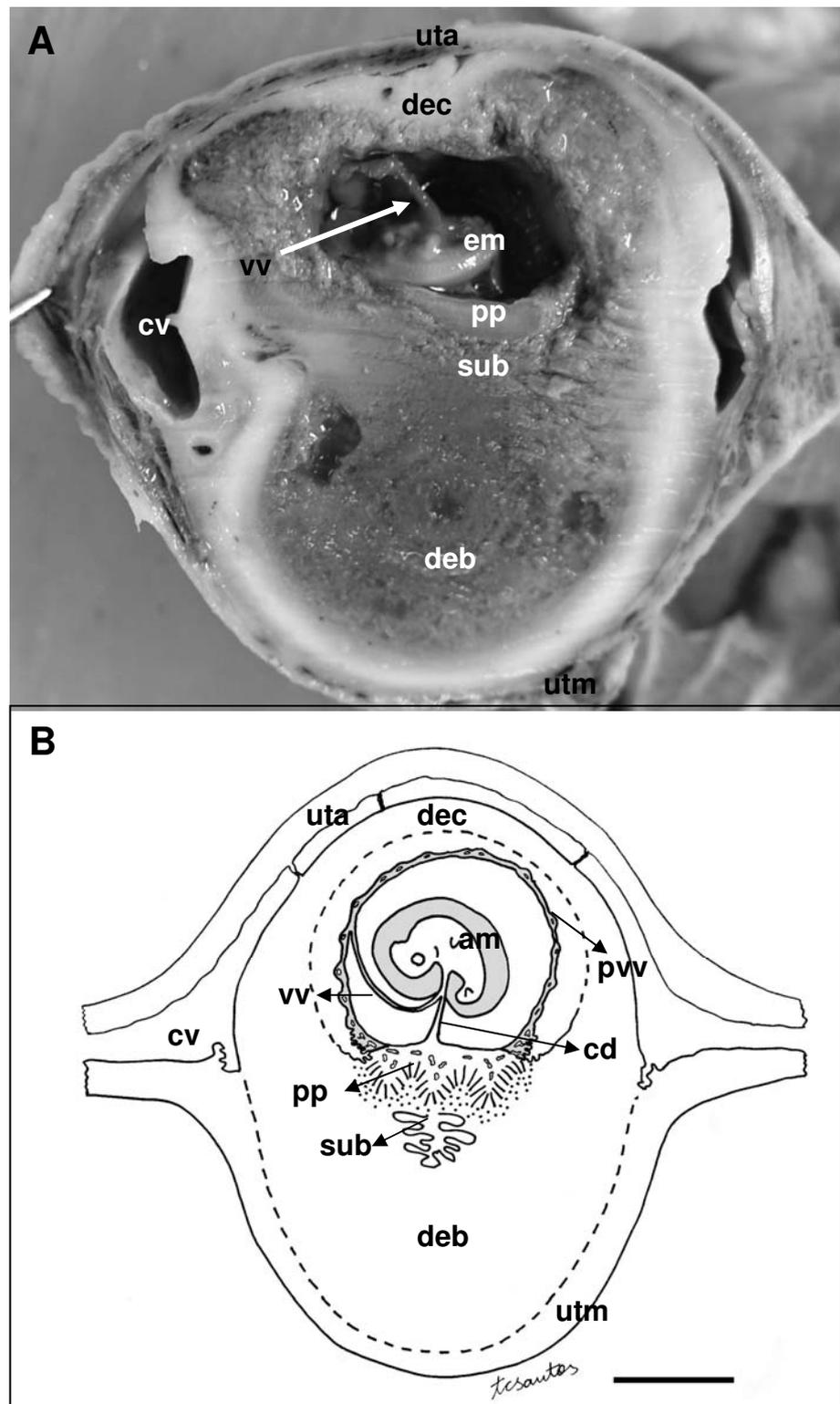


Figura 6 - Corte sagital mediano de placenta de capivara em início de prenhez e esquema correspondente. Útero antimesometrial (uta), útero mesometrial (utm), decídua capsular (dec), decídua basal (deb), placenta vitelínica visceral (pvv), placenta vitelínica parietal (pvp), placenta principal (pp), subplacenta (sub), âmnio (am), cordão umbilical (cd), vasos vitelínicos (vv), embrião (em) e cavidade uterina (cv). Barra 1 cm

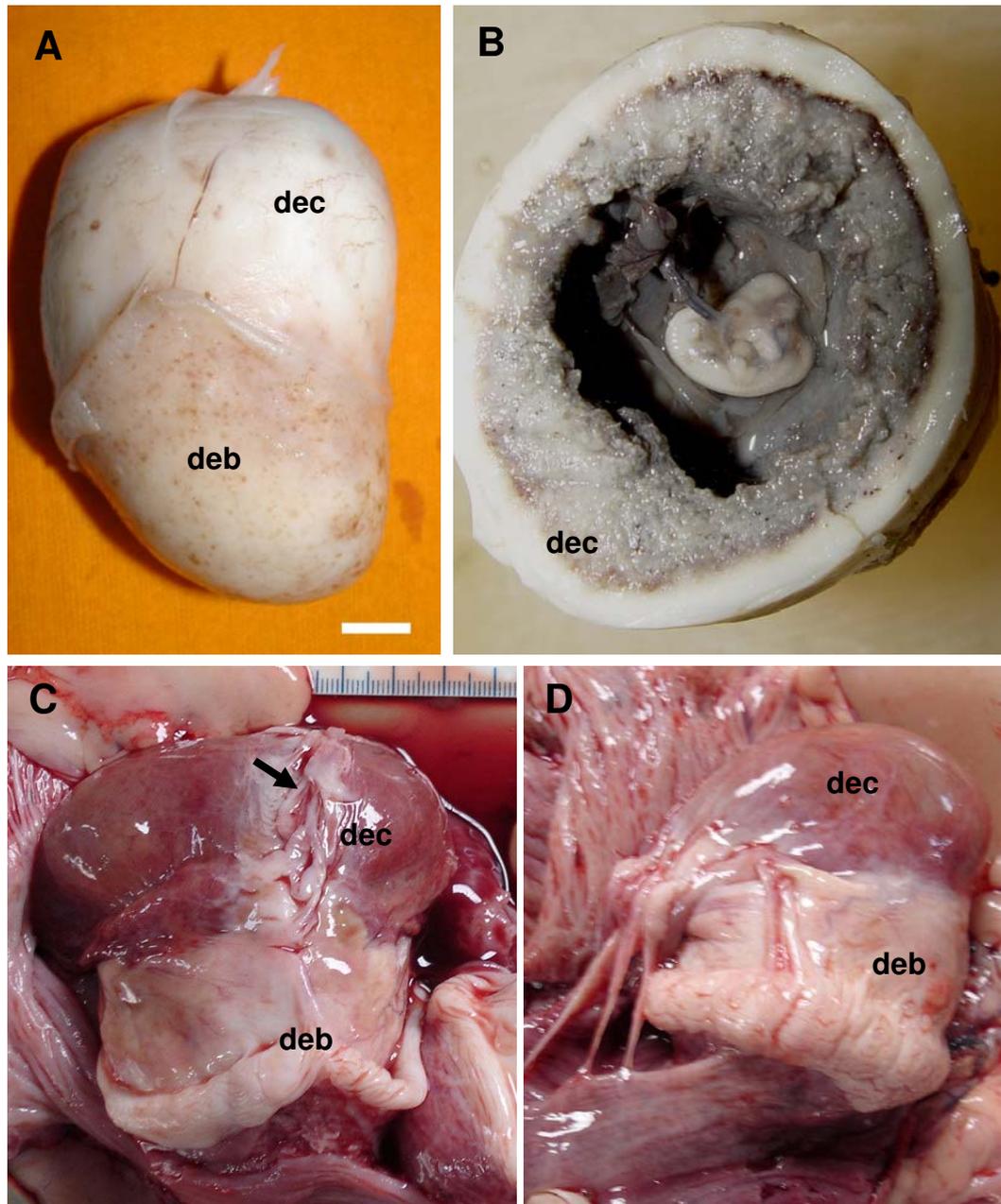


Figura 7 - A) O conjunto representado pela placenta e decídua possui formato ovalado. B) Em corte transversal de placenta fixada a decídua capsular (dec) esta espessa e possui aspecto “esponjoso”. C-D) Esta torna-se mais fina e transparente nos animais mais desenvolvidos das fêmeas 6 (C) e 03 (D). As setas negras identificam os tirantes de conexão entre a face antimesometrial do útero e a decídua capsular. Decídua basal (deb). Barra = 1 cm

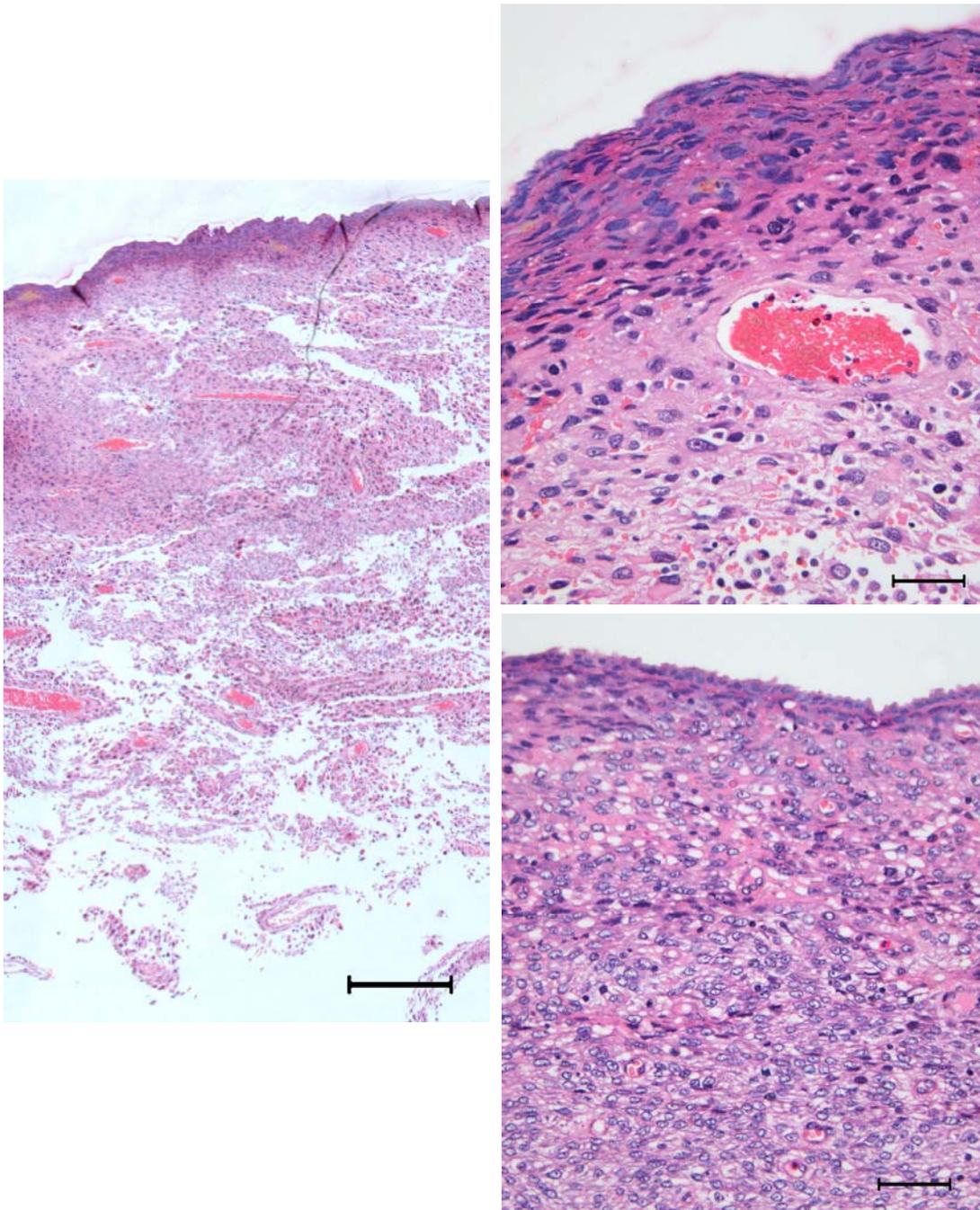


Figura 8 - Fotomicrografia da decídua capsular da placenta de capivara da fêmea 3 (A-B) e da fêmea 4 (C). A) Vista panorâmica. B-C) Detalhe da superfície voltada para a luz uterina recoberta por epitélio simples (seta). Vasos sanguíneos (vs). Paraplast, HE, Barra A) 500 µm e B-C) 50 µm

### 5.2.2 Placenta Vitelínica

A primeira membrana placentária identificada ao se abrir à decídua capsular era a placenta vitelínica visceral, caracterizada por uma fina e transparente membrana com vasos sanguíneos evidentes distribuídos por toda a superfície. Esta membrana inseria-se na superfície da placenta principal, em suas margens, projetando-se completamente sobre o embrião e o âmnio (Figura 9).

Histologicamente, a placenta vitelínica visceral possuía pregas recobertas externamente pelo epitélio endodérmico pseudoestratificado, composto por células cilíndricas, com núcleos esféricos e centrais, cromatina frouxa e citoplasma eosinófilo, levemente PAS positivo, algumas áreas este tornava-se cilíndrico baixo ou cúbico. Este epitélio estava apoiado sobre uma camada de mesênquima rico em fibras colágenas, no qual vasos sanguíneos estavam distribuídos. A face da placenta vitelínica voltada internamente para o âmnio estava revestida por um epitélio pavimentoso simples (Figura 10) e na margem próxima a placenta principal apresentava um anel fibrovascular, composto por tecido mesenquimal e vasos sanguíneos.

Já a placenta vitelínica parietal projetava-se sobre a superfície da placenta principal e estava mais evidente na placenta da Fêmea 03, considerada a mais desenvolvida do grupo analisado. Particularmente nos animais estudados, esta porção da placenta era identificada apenas após análise histológica. Microscopicamente, a placenta vitelínica parietal estava composta por um epitélio simples composto por células cilíndricas ciliadas, variando em altura, que ora estavam recobrimdo áreas lineares ora estavam sobre pregas ramificadas, principalmente na margem da placenta principal mais próxima a decídua basal (Figura 11).

A placenta vitelínica parietal estava posicionada sobre uma faixa de tecido conjuntivo, mais denso em alguns pontos e frouxo em outros, a membrana de Reichert's, abaixo da qual se encontrava a região de espongiotrofoblasto. O espongiotrofoblasto era caracterizado por células globosas e com citoplasma claro, repleto de vacúolos, posicionados em faixa ou em grupos em alguns pontos,

mantendo contato com as áreas de sinciotrofoblasto típico das áreas de interlóbulo da placenta principal, nessas áreas representando pelo sincio marginal (Figura 11).

### 5.2.3 Âmnio

O **âmnio** era uma membrana fina e transparente que envolvia o embrião ou feto. Nos embriões o âmnio ainda não tocava a superfície da placenta principal, fato este observado nos fetos, em que o âmnio delimitava uma área arredondada de inserção e pôde ser observado também em cortes histológicos panorâmicos.

Microscopicamente observou-se um epitélio simples pavimentoso, com células com núcleos achatados, disposto sobre um mesênquima frouxo com fibras colágenas (Figura 12).

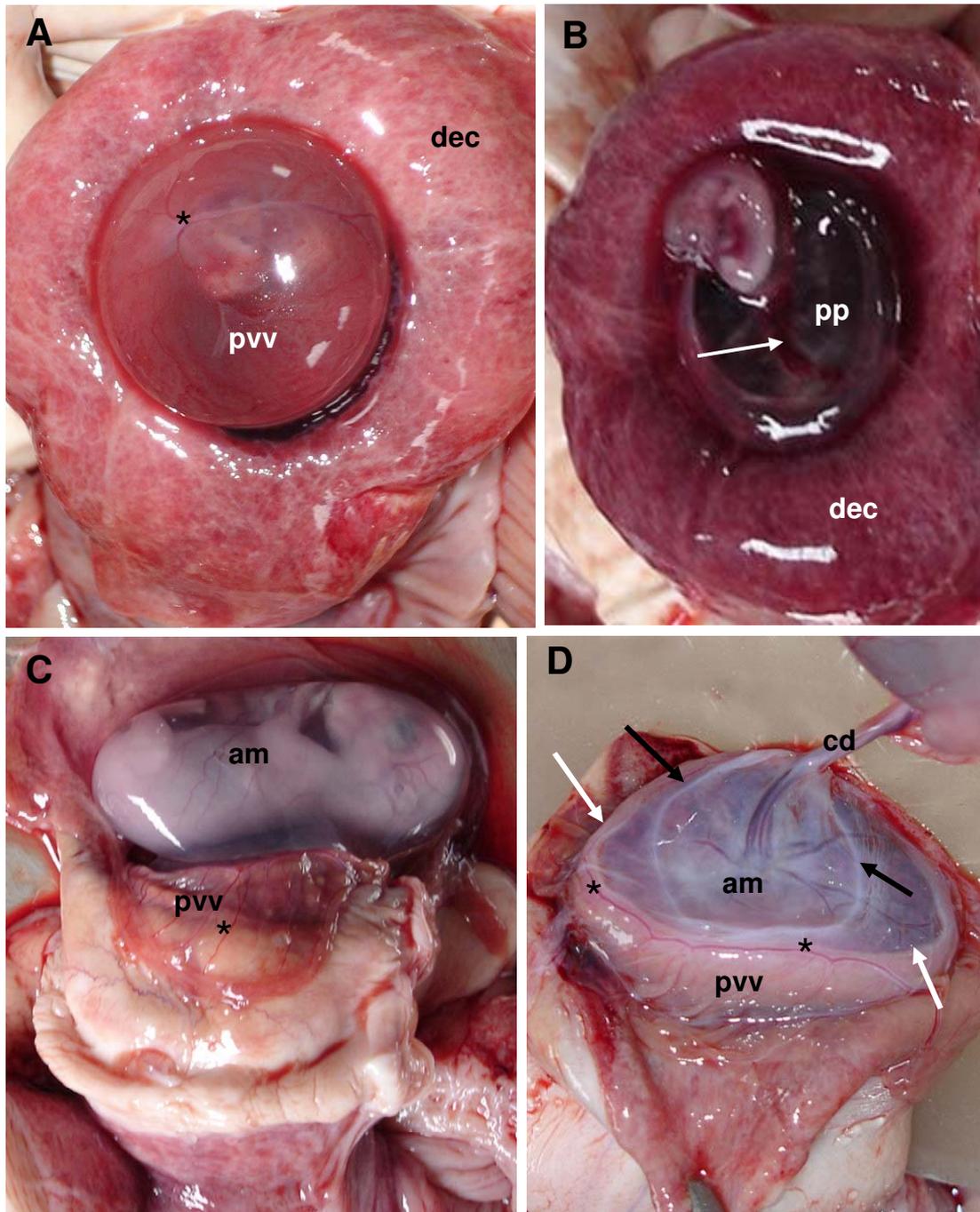


Figura 9 - A-B) Face interna da decídua capsular (dec) após incisão na face luminal e exposição da placenta vitelínica visceral (pvv) vascularizada (\*) e do embrião contido no seu interior conectado a placenta principal (pp) pelo cordão umbilical (seta). C-D) Placenta de capivara evidenciando o âmnio (am) envolvendo o feto conectado a placenta principal pelo cordão umbilical (cd). Notas a inserção do âmnio (setas escuras) e da placenta vitelínica visceral (setas brancas) sobre a superfície da placenta principal

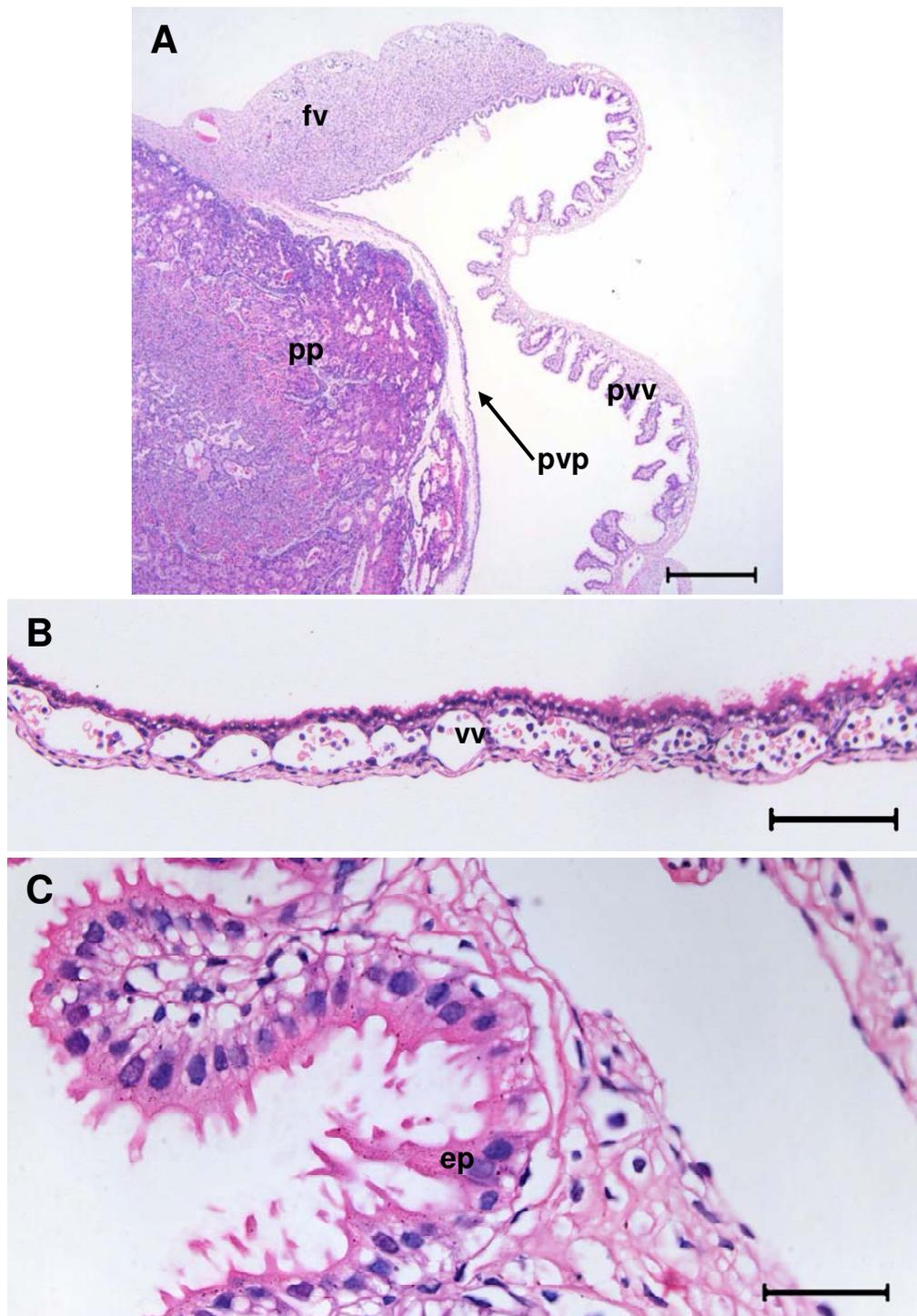


Figura 10 – A) Fotomicrografia de corte da placenta de capivara identificando a projeção da placenta vitelínica visceral (pvv) e da placenta vitelínica parietal (pvp) sobre a margem da placenta principal (pp), em que ve-se a formação do anel fibrovascular (fv). B-C) Detalhes da placenta vitelínica visceral em áreas sem e com pregas, notar a vascularização intensa (vv) e o epitélio cilíndrico (ep). Paraplast, HE. Barra A) 200  $\mu$ m, B) 100  $\mu$ m, C) 40  $\mu$ m

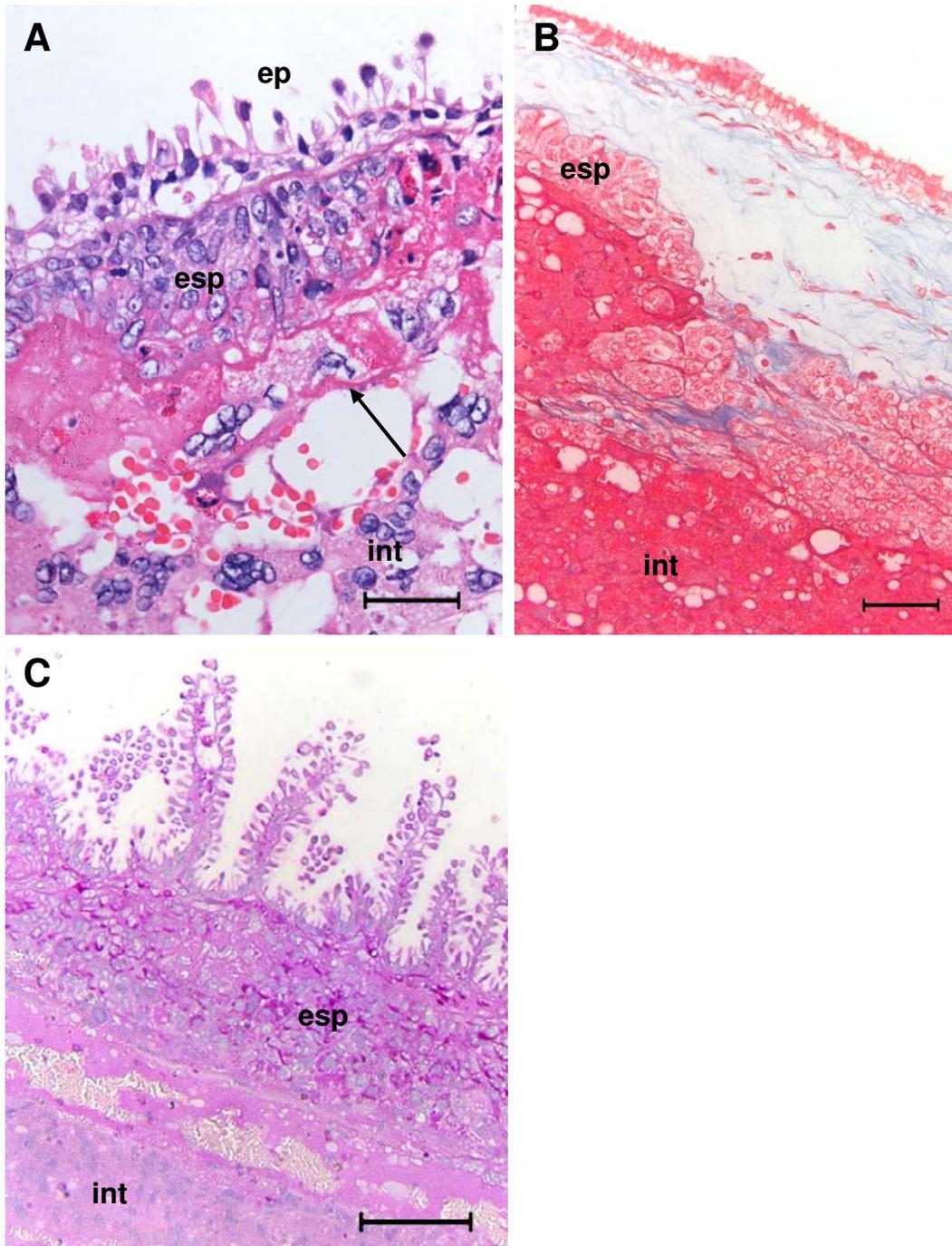


Figura 11 - Fotomicrografias da margem lateral da placenta principal, recoberta pela placenta vitelínica parietal (pvp), a qual esta sobre uma faixa de tecido conjuntivo, a membrana de Reichert's. Nesta região visualiam-se também as células do espongiotrofoblasto (esp) e as áreas de interlóbulo (int). Barra A) 40  $\mu\text{m}$  , B-C) 100  $\mu\text{m}$

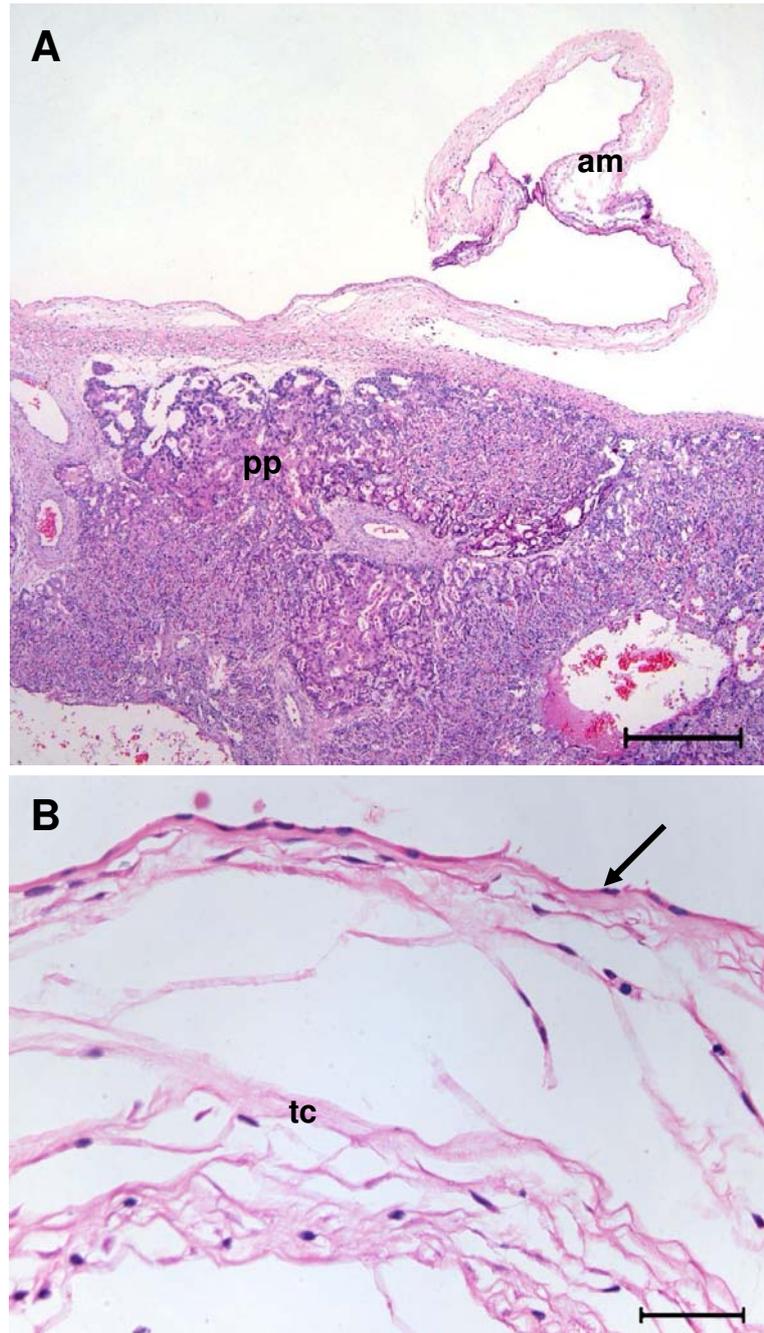


Figura 12 - Fotomicrografias da margem de inserção do âmnio (am) sobre a placenta principal (pp). O âmnio esta composto por um epitélio pavimentoso simples (seta) sobre uma faixa de tecido conjuntivo frouxo (tc). Barra A-B) 40  $\mu$ m

#### 5.24 Placenta Principal

A placenta principal possuía a forma de cálice, a fresco de cor avermelhada, e relacionava-se no sentido materno com a subplacenta, centralmente com a decídua basal lateralmente. Ao corte longitudinal, a placenta principal projetava-se lateralmente sobre a decídua e identificavam-se macroscopicamente os lóbulos nas placentas dos Fêmeas 03 e 06, enquanto nas placentas do Fêmea 04 via-se esta apenas como uma área mais clara (Figura 13).

Estruturalmente a placenta principal estava composta por lóbulos e áreas entre estes denominadas interlóbulo. O lóbulo da placenta estava constituído por duas regiões distintas: a área de centro do lóbulo e a área de labirinto. No centro do lóbulo identificavam-se vasos sanguíneos de maior calibre imersos no mesênquima. Na Fêmea 04, a face da placenta voltada para o embrião, haviam vasos sanguíneos que se dirigiam para as áreas de centro do lóbulo. A arquitetura lobular estava iniciando a radiação em torno de grandes vasos o labirinto estava composto por capilares sem orientação radial. Já nas placentas das fêmeas 03 e 06, as áreas de labirinto e de interlóbulo estavam bem diferenciadas, com orientação das lacunas maternas no labirinto de forma paralela entre si e elaboração dos lóbulos. Particularmente a Fêmea 03 a área de placenta principal era muito mais desenvolvida e os lóbulos bem mais distintos (Figuras 14, 15 e 16).

O labirinto caracterizava-se por possuir lacunas revestidas por trofoblasto com aspecto sincicial e capilares fetais dispostos por entre o sincício. No corte transversal dos lóbulos observava-se em alguns pontos a radiação destas estruturas a partir de vasos maiores posicionados no centro dos lóbulos placentários.

O interlóbulo, a região entre os lóbulos placentários, apresentava um aspecto menos organizado e o sinciotrofoblasto possuía maior eosinofilia que do labirinto. Estas áreas estavam compostas por células trofoblásticas de natureza sincicial (sinciotrofoblasto), identificadas em função do seu grau de organização. Os núcleos sinciciais encontravam-se distantes uns aos outros, possuíam cromatina frouxa e forma esférica e citoplasma eosinófilo. Entre as células sinciciais amplas lacunas preenchidas por material eosinófilo eram identificadas, em alguns locais viam-se células sanguíneas (Figura 16). Na Fêmea 04 estas regiões representavam

a maioria do tecido da placenta principal enquanto nos demais proporcionalmente as regiões de labirinto ocupavam maior espaço.

A zona de transição, entre a placenta principal e a subplacenta, era constituída por tecido conjuntivo fetal e vasos sanguíneos.

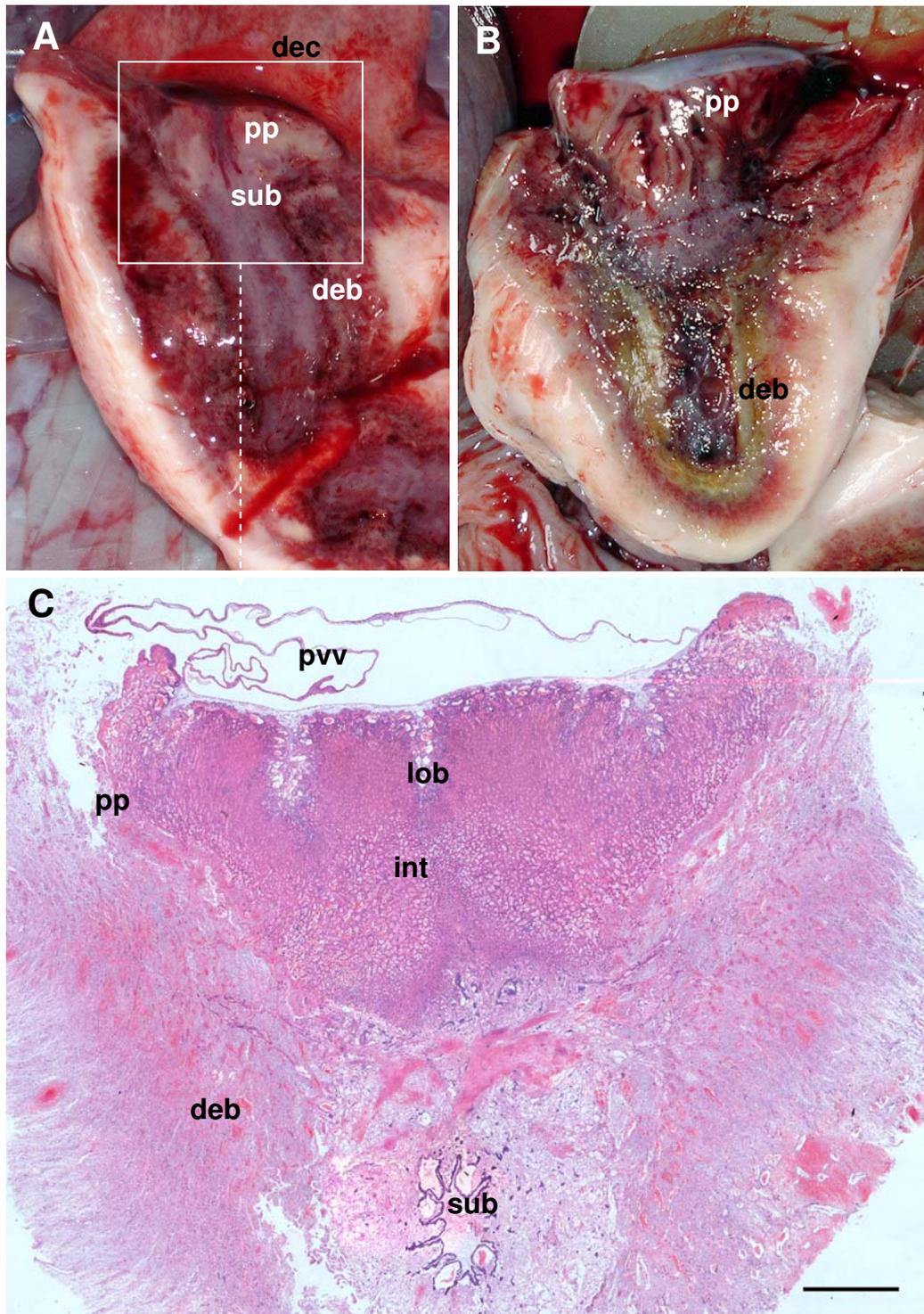
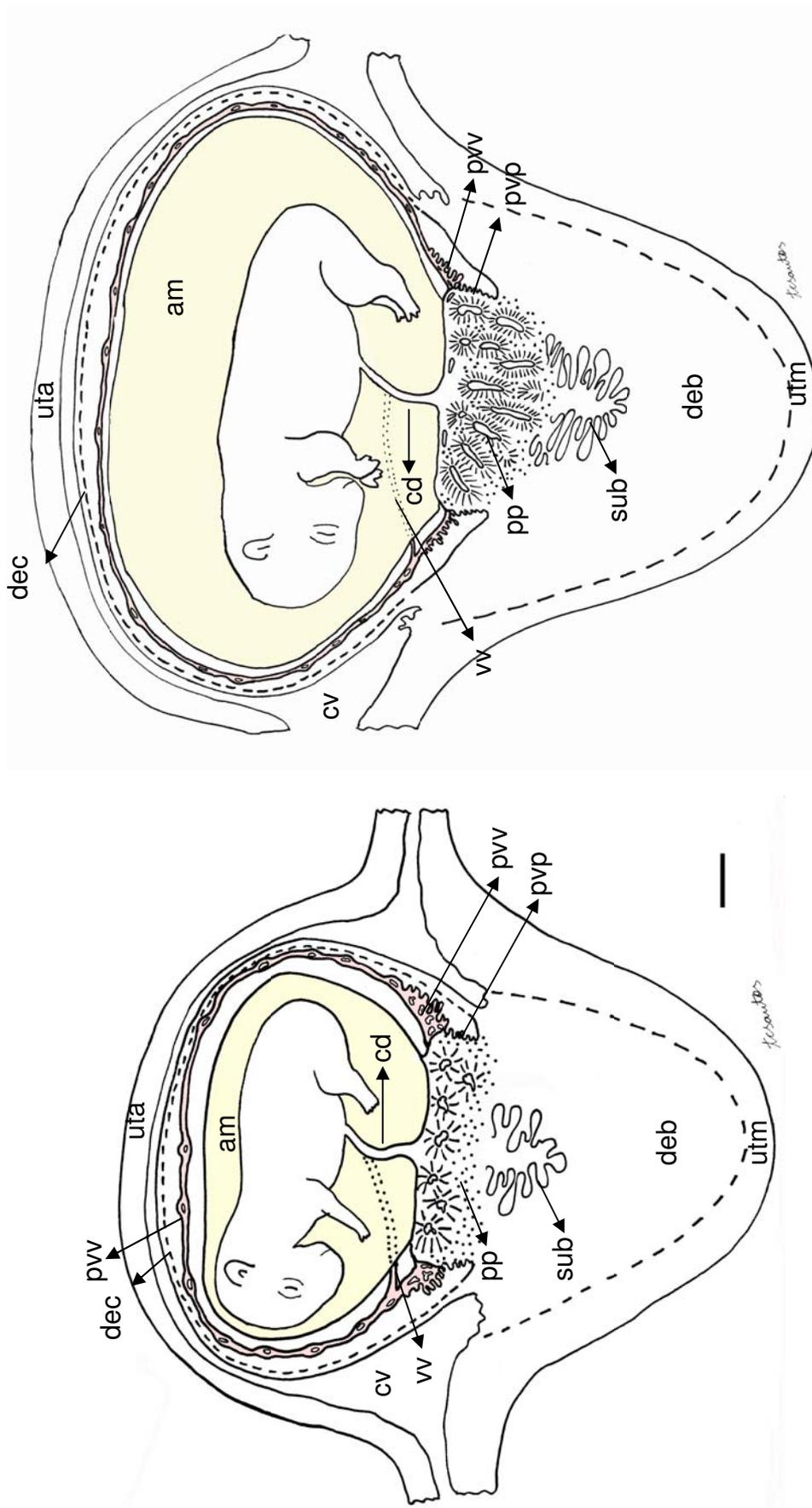


Figura 13 - Corte sagital mediano de placenta a fresco da fêmea 04 (A) e 03 (B) evidenciando as diferentes regiões da placenta da capivara. C) Detalhe estrutural da placenta em A. Notar a formação da placenta principal (pp) composta por regiões de lóbulo (lob) e interlóbulo (int). Decídua basal (deb), placenta vitelínica visceral (pvv), subplacenta (sub). Paraplast, HE, Barra 1 cm



Figura 14 - Fotomicrografia da região paramediana da placenta de capivara (fêmea 03). Nesta fase os lóbulos (lob) estão bem definidos e a região de interlóbulo (int) apresenta grandes lacunas (\*). Decídua basal (deb), placenta vitelínica visceral (pvv), subplacenta (sub). Paraplast, HE. Barra 500  $\mu$ m



**Figura 15** – Esquemas de corte sagital mediano de placenta de capivara em início de prenhez. Útero antimesometrial (uta), útero mesometrial (utm), decídua capsular (dec), decídua basal (deb), placenta vitelínica visceral (pvv), placenta vitelínica parietal (pvp), placenta principal (pp), subplacenta (sub), âmnio (am), cordão umbilical (cd), vasos vitelínicos (vw), embrião (em) e cavidade uterina (cv). Barra = 1 cm

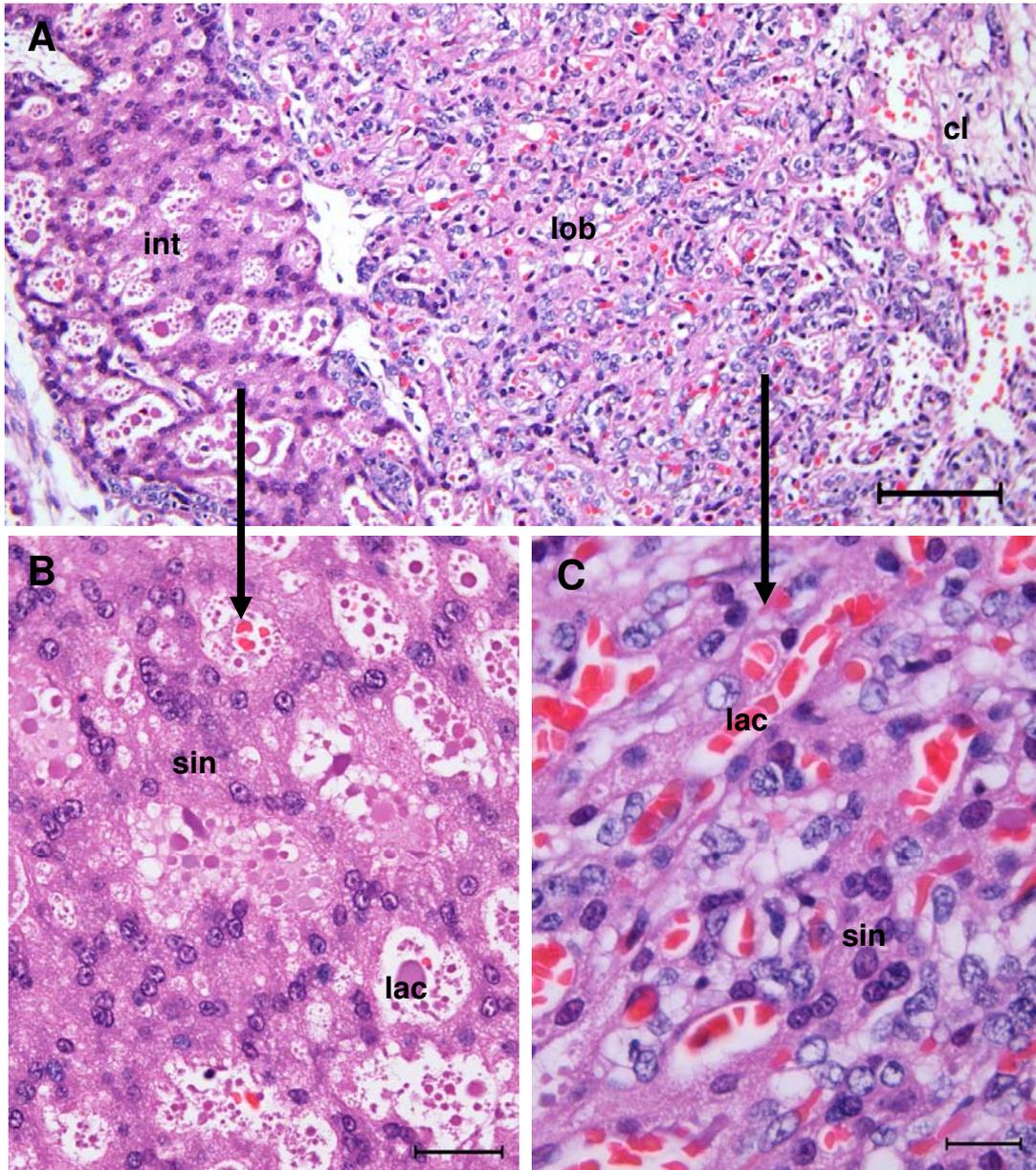


Figura 16 - Fotomicrografias das regiões de lóbulo (lob) e de interlóbulo (int) da placenta de capivara. No centro do lóbulo (cl) vasos formam um labirinto de sinciocitotrofoblasto (sin) margeando as lacunas maternas (lac), os quais continuam-se pelas lacunas na região de interlóbulo. Paraplast, HE, Barra A) 200  $\mu$ m, B) 40  $\mu$ m, C) 20  $\mu$ m

### 5.2.5 Subplacenta

A subplacenta posicionava-se entre a placenta principal e a decídua basal, com formato cônico cujo ápice penetrava na decídua. Macroscopicamente distinguia-se das regiões adjacentes, sendo mais facilmente identificada nas prenhez mais avançadas. Microscopicamente encontrava-se dividida em pequenos lóbulos irregulares, separados uns dos outros por mesênquima, contendo vasos sanguíneos.

Segundo o aspecto celular, a subplacenta estava composta por sinciotrofoblasto e citotrofoblasto. O citotrofoblasto, com núcleos esféricos com cromatina dispersa, formava uma camada de 2 ou mais células sustentadas pelo tecido conjuntivo frouxo, por onde transitavam os vasos sanguíneos. Já o sinciototrofoblasto apresentava núcleos próximos uns dos outros, com aspecto e com limites celulares pouco definidos, citoplasma basófilo e altamente PAS positivo (Figura 17).

A zona juncional representava a transição entre a subplacenta e a decídua, representada por uma grande faixa de tecido amorfo, eosinófilo, PAS positivo, ao redor da subplacenta contendo células trofoblásticas gigantes dispersas ou agrupadas. As células trofoblásticas gigantes caracterizavam-se pelo citoplasma claro e numerosos núcleos arredondados (Figura 18).

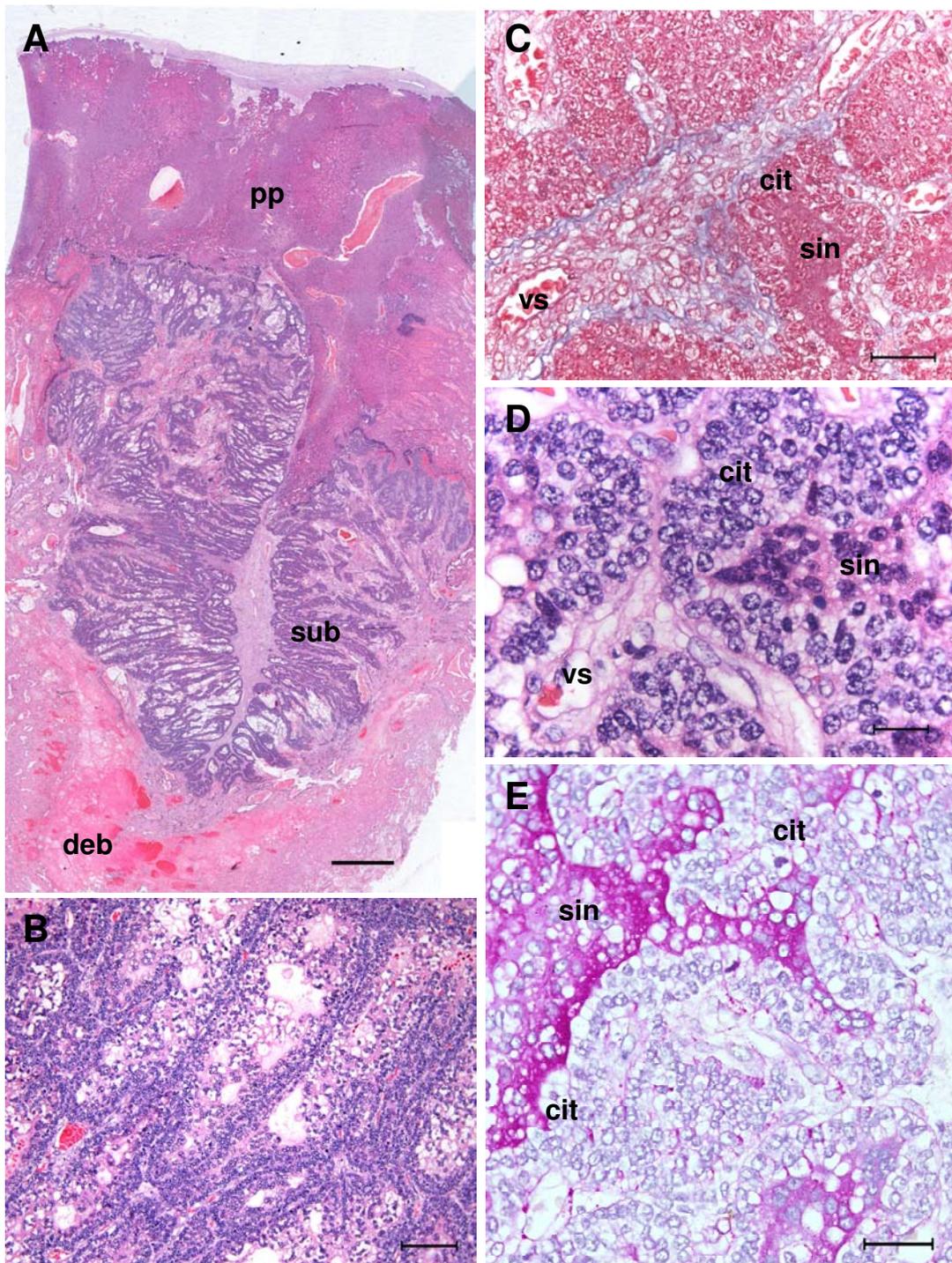


Figura 17 – Fotomicrografias da subplacenta de capivara (fêmea 03). A) Vista panorâmica da subplacenta (sub) evidenciando sua posição entre a placenta principal (pp) e a decídua basal (deb). B) Detalhe da característica lobulada da subplacenta. C-E) Composição histológica da subplacenta em área de conjuntivo fetal com vasos sanguíneos (vs), citotrofoblasto (cit) e sinciotrofoblasto (sin) eosinófilo e PAS+. Paraplast A,B,D) HE, C) Tricrômio de Masson e E) PAS. Barras A) 1000 µm, B) 100µm, C,E) 40µm e D) 20µm.

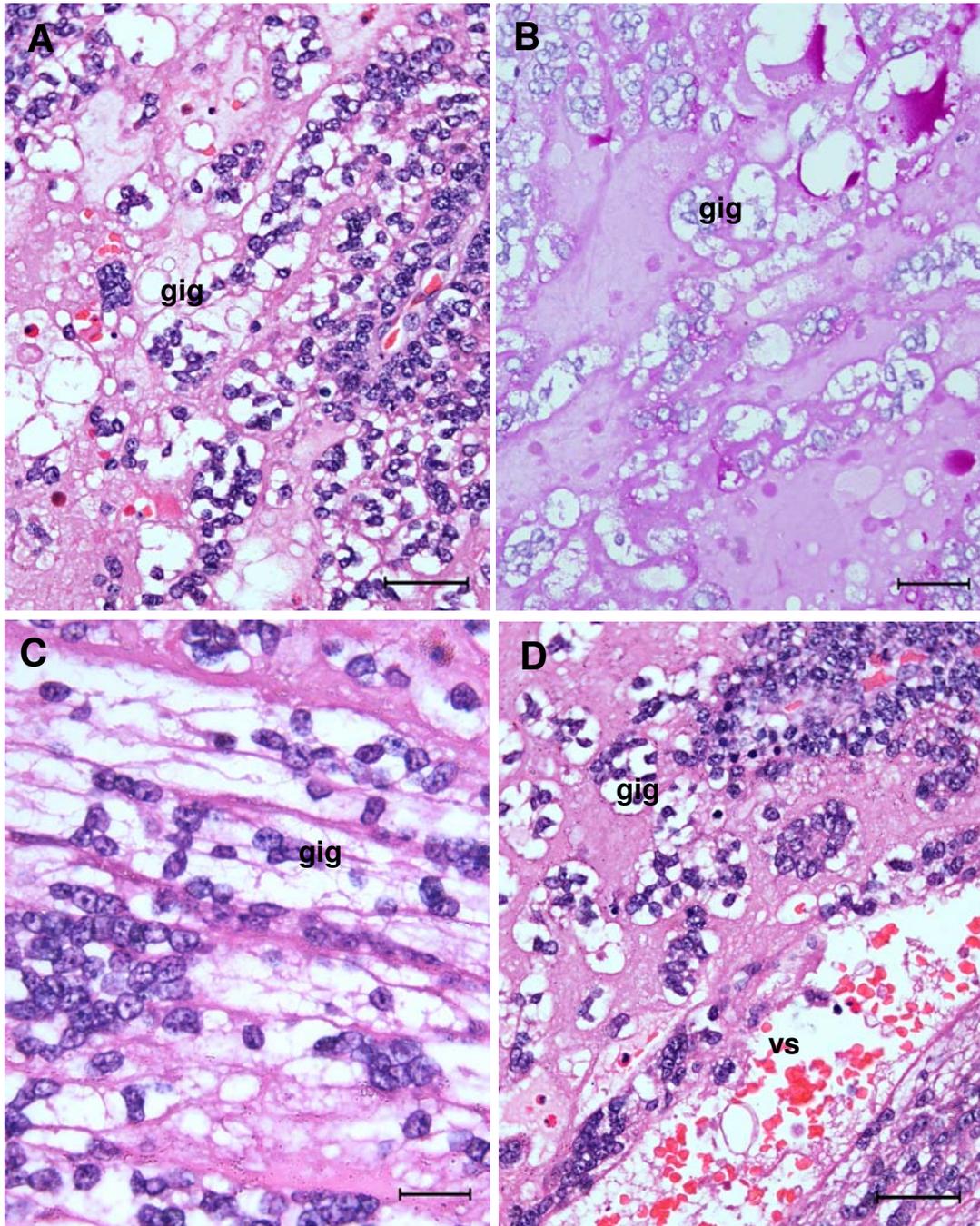


Figura 18 – Fotomicrografias da zona juncional da capivara evidenciando as células gigantes imersas em material amorfo eosinófilo e PAS+. Notar a proximidade com a parede de vasos sanguíneos (vs). Paraplast, HE (A,C,D) e (B) PAS. Barras A,B,D) 40 $\mu$ m e C) 20 $\mu$ m.

### 5.2.6 Decídua Basal

A área de decídua basal correspondia a porção uterina da placenta em que estava inserida na face mesometrial dos úteros analisados. Macroscopicamente e a fresco caracterizava-se pela coloração esbranquiçada que se mantém após fixação em formol. Esta área era facilmente removida do restante do útero e estava conectada a este por vasos sanguíneos. Ao corte longitudinal possuía coloração esbranquiçada na periferia e avermelhada no interior, sendo que na Fêmea 03, considerada com prenhez mais adiantada daquelas analisadas, uma área intermediária de coloração amarelada, foi observada (Figura 13).

Histologicamente a decídua basal apresentava externamente uma faixa de tecido conjuntivo denso com fibras e fibroblastos organizados paralelamente, enquanto que a região central tornava-se desorganizada. Na região central observaram-se grandes vasos sanguíneos, áreas com massas trofoblásticas afastadas do tecido placentário, pequenas células decíduais e grandes células decíduais (Figura 19).

Nas áreas próximas a subplacenta os vasos sanguíneos da decídua tiveram o endotélio e a parede muscular substituídas por células trofoblásticas e grandes células decíduais, caracterizadas pelo tamanho e forma do núcleo, o qual podia ultrapassar 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, e pelo citoplasma eosinófilo e PAS+, com até 100  $\mu\text{m}$  de comprimento (Figura 19).

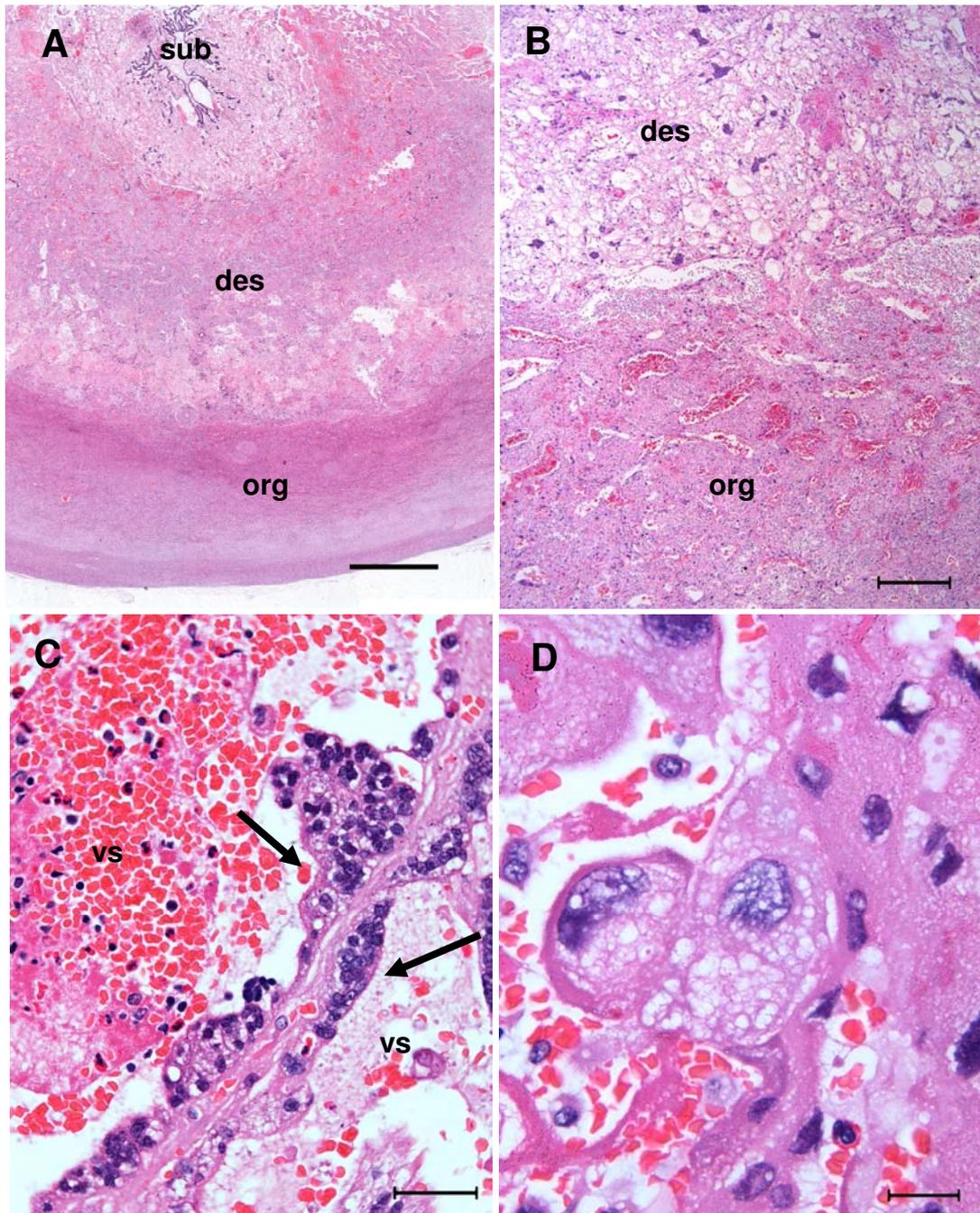


Figura 19 – Fotomicrografias da decídua basal da placenta de capivara. A) Corte longitudinal da área de decídua basal evidenciando regiões distintas de decídua compacta e de decídua desorganizada. Detalhes das células dispersas pela decídua próximo a vasos (vs) e grandes células deciduais (\*). Paraplast HE, Barras A) 2000  $\mu\text{m}$ , B) 100  $\mu\text{m}$ , C) 40  $\mu\text{m}$  e D) 20  $\mu\text{m}$ .

### 5.2.7 Citoqueratina, Vimentina e Alfa-Actina de Músculo Liso

As diferentes regiões da placenta (placenta vitelínica, placenta principal, subplacenta e decídua basal), foram submetidas às reações de imunohistoquímica para vimentina, citoqueratina e alfa-actina de músculo liso.

Na região da placenta vitelínica observaram-se reações positivas para citoqueratina nas células epiteliais, nas células do espongiotrofoblasto (Figura 20 A-B). A vimentina foi imunolocalizada no endotélio vascular e nos fibroblastos do mesênquima (Figura 20 C-D). Para alfa-actina de músculo liso, notaram-se reações positivas tanto nas células musculares da parede vascular da placenta vitelínica visceral, quanto no mesênquima (Figura 20 E-F).

Com relação a placenta principal a área de labirinto a imunolocalização para citoqueratina foi positiva nas células do sinciótroblasto (Figura 21 A e Figura 22 A-B), e na área de interlóbulo nas áreas de lamelas. Para vimentina, observou-se reação positiva nos endotélios dos vasos sanguíneos do labirinto (Figura 21 B e Figura 22 C-D). A alfa-actina de músculo liso não foi detectada nas lacunas do interlóbulo (Figura 22 F).

A região da subplacenta apresentava reações positivas para citoqueratina, marcadas fortemente nas células citotrofoblásticas (Figura 23 A) e fraca reação nas células do sinciótroblasto assim como nas células gigantes (Figura 23 B). A vimentina obteve reação positiva nas células endoteliais dos vasos dispersos no eixo do mesênquima nos fibroblastos (Figura 23 C). Para a alfa-actina de músculo liso, foram marcados a parede dos vasos sanguíneos (Figura 23 D).

Por fim, a região da decídua basal possuía reação positiva para citoqueratina nas células gigantes (Figura 24 A-B) dispersas na decídua, nas pequenas e grandes células deciduais. A vimentina foi positiva nos células endoteliais dos vasos sanguíneos e também em células dispersas no conjuntivo (Figura 24).

A alfa-actina de músculo liso teve reação positiva na parede de vasos e em áreas de miométrio (Figura 24 D).

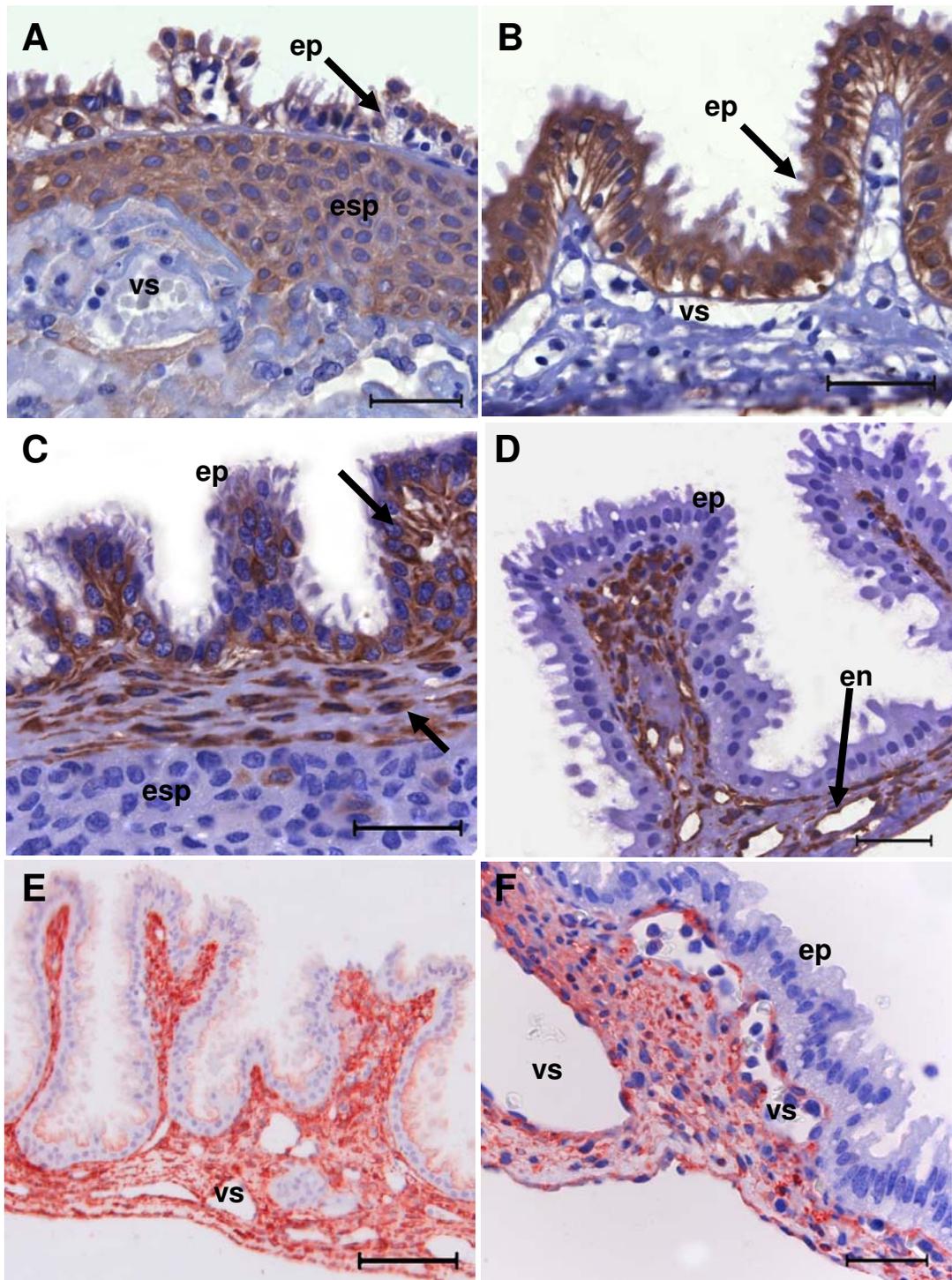


Figura 20 - Fotomicrografias da placenta vitelínica parietal (A,C) e visceral (B,D,E,F) de capivara. Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A-B) nas células epiteliais (ep) e espongiotrofoblasto (esp), para vimentina (C-D) nas células endoteliais (en) e nos fibroblastos e para alfa-actina (E-F) na parede de vasos (vs) e conjuntivo. Paraplast, Barra A-D,F) 100  $\mu$ m, E) 40  $\mu$ m

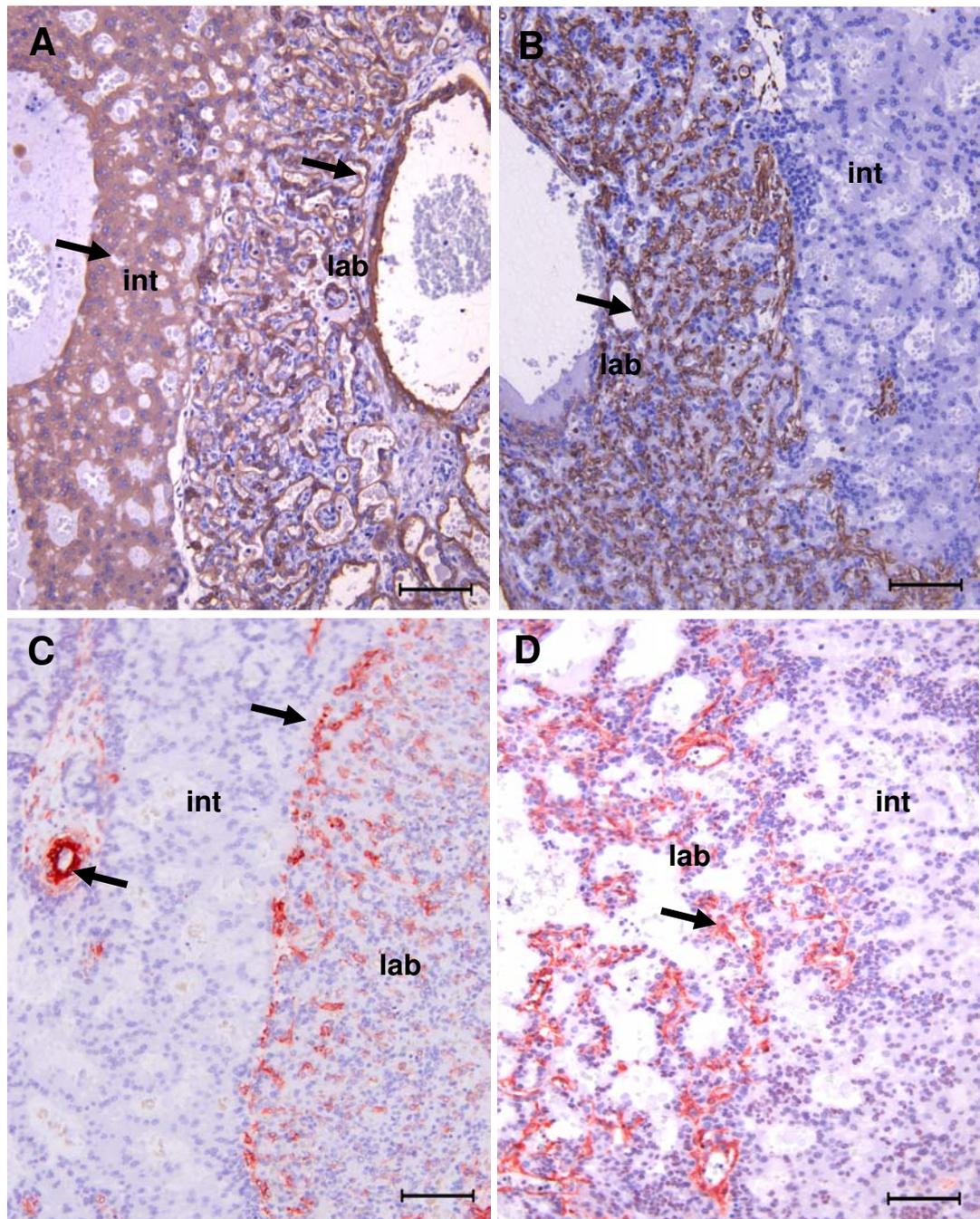


Figura 21 - Fotomicrografias da placenta principal de capivara com áreas de labirinto (lab) e interlóbulo (int). Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A) nas células do sincício, para vimentina (B) no endotélio dos capilares do labirinto e para actina (C-D) na parede de vasos do labirinto e do interlóbulo. Paraplast, Barra 100  $\mu\text{m}$

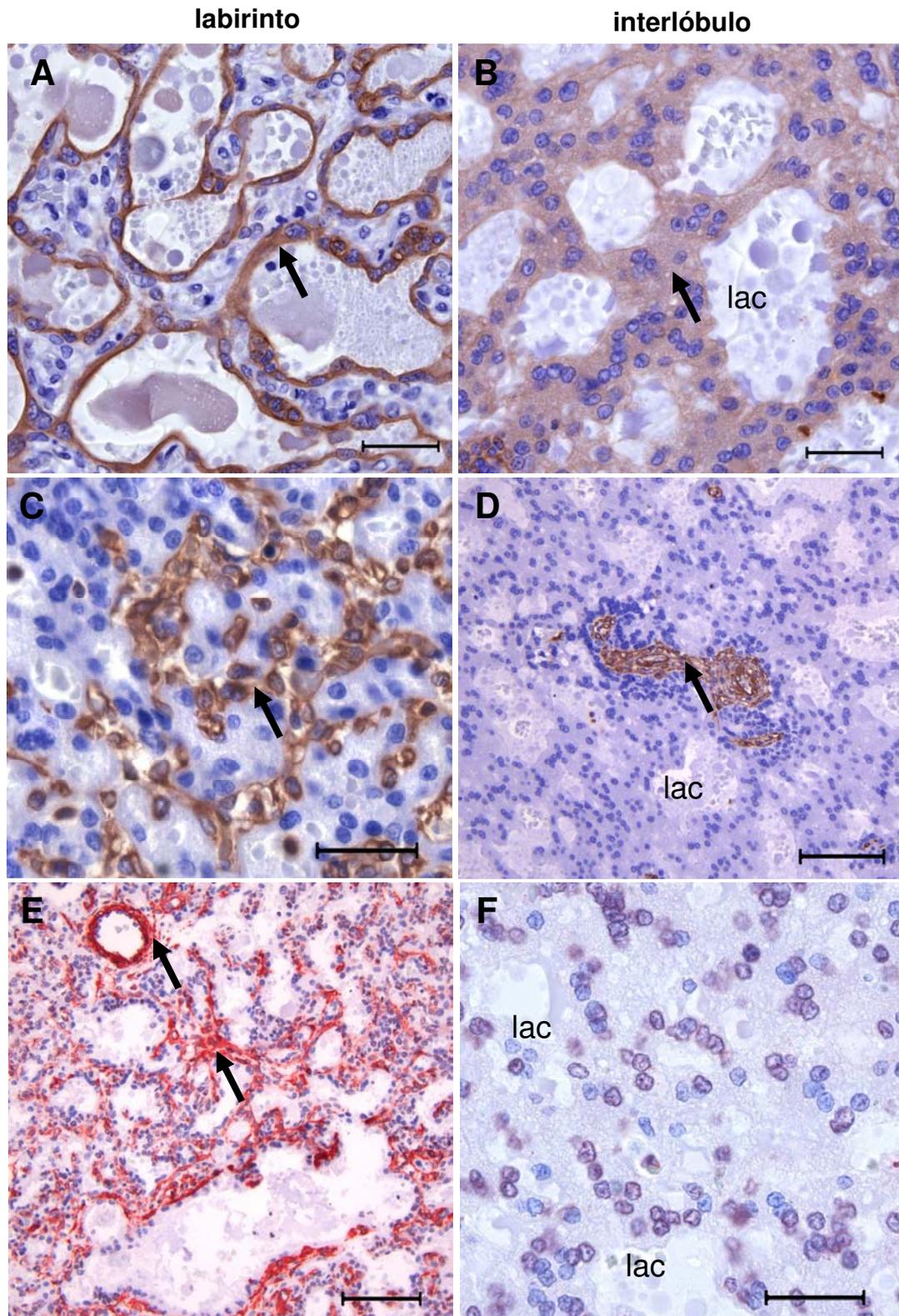


Figura 22 - Fotomicrografias da placenta principal de capivara com áreas de labirinto e interlóbulo. Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A-B) nas células do sincício para vimentina (C-D) no endotélio dos capilares do labirinto e para actina (D-E) nos vasos do labirinto, e reação negativa nas lacunas (lac) do interlóbulo (F). Paraplast, Barra A-C, F) 40  $\mu$ m, D-E) 100  $\mu$ m

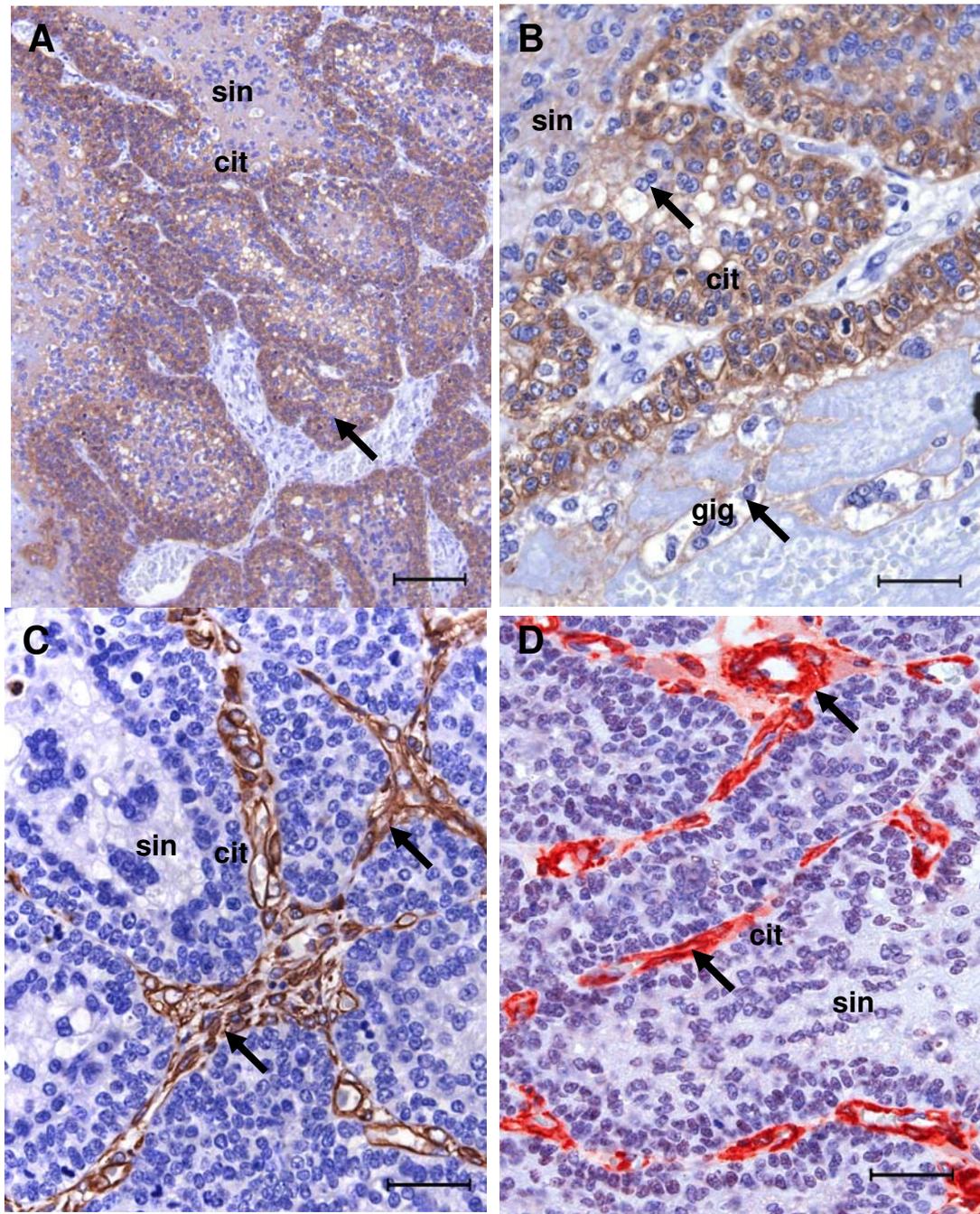


Figura 23 - Fotomicrografias da subplacenta de capivara. Imunolocalização positiva (setas) para citoqueratina (A) forte nas células do citotrofoblasto (cit) e fraca no sinciciotrofoblasto (sin) e nas células gigantes (B). As células endoteliais e fibroblasto com reação positiva para vimentina (C) e positivo na parede de vasos para alfa-actina (D). Paraplast, Barra A) 100  $\mu$ m, B-D) 40  $\mu$ m

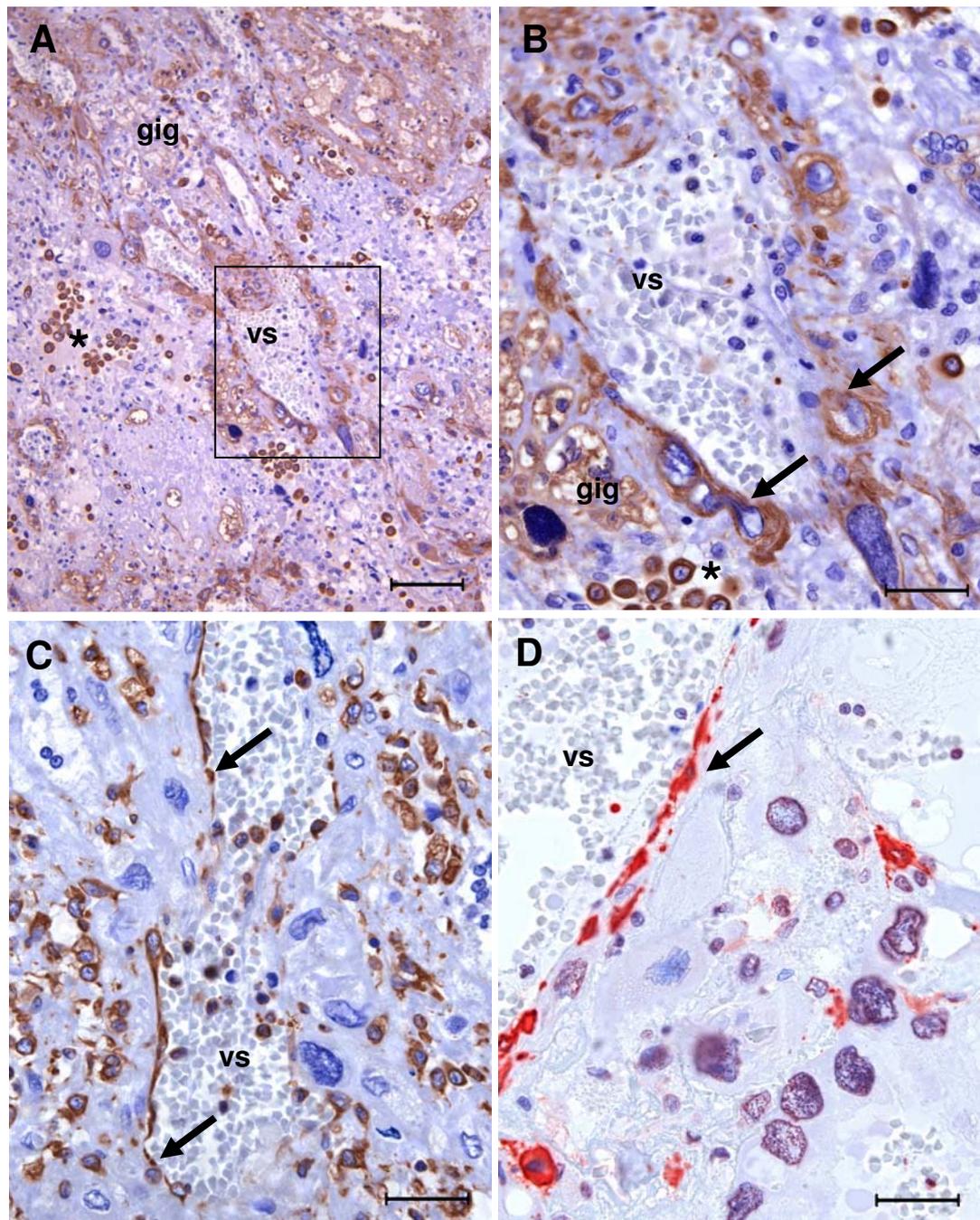


Figura 24 - Fotomicrografias de área de decídua na placenta de capivara. Imunolocalização positiva para citoqueratina (A-B) nas células gigantes (gig) e em células com grandes núcleos na parede dos vasos (seta) e células arredondadas agrupadas (\*). Vimentina positiva (C) nas células endoteliais e nos fibroblastos e para alfa-actina (D) na parede de vasos e conjuntivo. Paraplast, Barra A) 100  $\mu$ m, B-D) 40  $\mu$ m

## *6 Discussão*

## 6 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados estão discutidos com as informações contidas nas referências consultadas e estão organizados segundo os aspectos reprodutivos da capivara, a morfologia do útero, embriões e fetos e segundo a morfologia da placenta.

### 6.1 ASPECTOS REPRODUTIVOS DA CAPIVARA

Afirmaram Mones e Ojasti (1986) que a freqüência de acasalamento das capivaras é muito mais intensa no início do período chuvoso na Venezuela e nos meses de abril a maio no Mato Grosso, sugerindo a possibilidade das fêmeas terem duas ninhadas por ano, dependendo das condições favoráveis do meio ambiente. Os animais utilizados neste trabalho foram abatidas no mês de maio, período em que Mones e Ojasti (1986) descrevem como período reprodutivo para as capivaras. Outros autores afirmam que estes animais podem reproduzir-se ao longo de todo ano (ALHO et al. 1987a), e desta forma seria possível encontrar fêmeas prenhes em qualquer época.

Em relação ao número de filhotes por prenhez, as 03 fêmeas analisadas possuíam de 2 a 5 fetos ou embriões, no entanto em duas destas um dos fetos não se desenvolveu e observou-se uma placenta consideravelmente menor e com embrião degenerado ou não-desenvolvido, sugerindo que estes seriam reabsorvidos no decorrer da prenhez. Não foram identificados na literatura consultada relatos deste fenômeno de unidades feto-placenta subdesenvolvidos na capivara, provavelmente porque ao nascimento apenas aqueles que vieram a termo foram considerados pelos autores. Particularmente sobre o tamanho das ninhadas na capivara cita-se que estes animais apresentam de 2 a 5 filhotes (ZARA, 1973), mais precisamente de  $4,4 \pm 1,3$  filhotes/ninhada, sendo as fêmeas multíparas, capazes de produzir de 4 a 8 crias (LOPEZ, 1984; BARBELLA, 1987). Estes valores são semelhantes aos observados por Lavorenti et al. (1989) que encontraram uma média de 3,6 filhotes por parto e os de Neto et al. (1990) 3,48 filhotes por parto, respectivamente. Segundo Soiron (1993)

as fêmeas mais velhas apresentavam ninhadas maiores. O período de gestação na capivara pode variar de 147 a 156 dias (ALHO et al. 1987b; BARBELLA, 1987; LOPEZ, 1984; ZARA, 1973).

## 6.2 MORFOLOGIA DO ÚTERO, EMBRIÕES E FETOS

Externamente o útero da capivara apresenta morfologia característica de útero bicornuado, porém a análise interna da luz uterina identificou que esta possui luz em Y, e, portanto, o útero nesta espécie é duplo com cérvix em “Y”. Esta morfologia é comum a outros roedores, como é o caso da cutia (MOURA, 2003; MOSSAN, 1987), o porco-espinho norte-americano. O guinea-pig é citado como possuindo uma cérvix em “V”, ligeiramente diferente do encontrado em capivaras (MOSSMAN, 1987) .

Entre os roedores, várias são as espécies com útero duplo, com dois tubos uterinos separados que podem estar unidos externamente, mas internamente desembocam independentes em dois canais cervicais. São classificados como útero duplo: o guinea-pig (EGUND; CARTER 1974); o *Geomys sp* (MOSSMAN; HISAW, 1940), o rato-de-cana (ODUOR-OKELO; GOMBE, 1982), o porco-espinho canadense (PERROTA, 1959) e a chinchila (TIBBITTS; HILLEMANN, 1959). Entre os roedores histricomorfos sul-americanos destacam-se a cutia (MOURA et al 2003), cujo útero foi classificado como duplo parcial, cutia (RODRIGUIES et al 2006), e o mocó com útero bicornuado (OLIVEIRA et al 2006) e capivara (MIGLINO et al., 2002).

Com relação aos aspectos histológicos do útero vazio, Oduor-Okelo e Gombe (1982) descrevem que o útero do rato-de-cana (*Thryonomys swinderianus*) o útero destes animais apresenta-se recoberto por epitélio simples e a submucosa possui muitas glândulas abrindo-se no lúmen, comentou que o porco-espinho canadense (*Erethizon dorsatum*) que possui poucas glândulas uterinas na submucosa (PERROTA, 1959), e na chinchila (TIBBITTS; HILLEMANN, 1959) afirmaram que o útero da chinchila (*Cavia aparea*) a mucosa uterina achava-se coberta por um epitélio colunar simples, contínuo, e possuía glândulas tubulares que se abriam na luz do útero. O útero do pika americano (*Ochotona princeps*)

(HARVEY, 1959), é circular dividido em três regiões: o perimétrio, o miométrio e o endométrio. Este último revestido por uma camada de epitélio colunar simples com pregas endometriais que se estendem por todo comprimento da cavidade uterina. Durante o processo de implantação do blastocisto no corno uterino, ocasionalmente ocorrem leucócito polimorfonuclear, além da presença de leucócitos, eritrócitos e células epiteliais na luz uterina, que indicam degeneração histolítica progressiva do tecido uterino.

Silva e Perdomo (1983) estudaram úteros de capivaras não prenhez, e observaram túnicas: a mucosa, a muscular e a serosa. O epitélio da mucosa esta composto por células cilíndricas simples. Na muscular observou glândulas uterinas que indicam que o animal esta em fase proliferativa do ciclo. A túnica muscular estava bastante densa e suas fibras seguiam direções circulares e longitudinais externas.

Os resultados observados no útero de capivaras demonstraram que esta espécie compartilha da morfologia descrita para outros animais. A composição em 3 túnicas é comum a outras espécies. Destacam-se o epitélio pseudoestratificado da mucosa e as glândulas tubulares simples e a túnica muscular espessa.

A gestação da capivara varia de 147 a 156 dias (ALHO et al. 1987b; BARBELLA, 1987; LOPEZ, 1984; ZARA, 1973). Evans e Sack, (1972) através de análise das estruturas presentes no embrião, classifica o estagio gestacional de mamíferos de laboratórios e domésticos. Barbella (1987) estima o período da prenhez, analisando o comprimento fetal feto ou embrião. As características morfológicas dos embriões de capivara analisados, sugerem que a Fêmea 04 esta com até 30 dias com prenhez. Na demais fêmeas com fetos maiores 55 a 58mm prenhez esta mais adiantada e corresponde ao período em com mais de 60 dias.

### 6.3 MORFOLOGIA DA PLACENTA

Os roedores da sub-ordem dos histricomorfos caracteristicamente possuem placenta discoidal ou esférica, labiríntica, hemocorial e com subplacenta (MOSSMAN, 1987; CARTER; ENDERS, 2004) e estas características são compartilhadas pela capivara (MIGLINO et al , 2002).

Na placenta em início de prenhez de capivara analisadas foram identificadas as mesmas regiões descritas para o guinea-pig por Kaufmann e Davidoff (1977): decídua (capsular e basal), placenta vitelínica (visceral e parietal), placenta principal e subplacenta, e âmnio.

Roberts e Perry (1974) fizeram uma revisão comparando placentas entre os histricomorfos *Cavia porcellus*, *Galea musteloides* e *Erithizon dorsaium*, e relataram que a inversão completa do saco vitelínico ocorre após a implantação. Na capivara, não foi possível provar em que período da prenhez realmente ocorre a inversão, visto que neste estudo foram observadas as placentas já inseridas na face mesometrial da mucosa dos cornos uterinos

Sobre a morfologia placentária de roedores sul-americanos, como é o caso da paca, da cutia, da capivara e do mocó, entre outros, alguns estudos foram realizados. Na cutia (*Dasyprocta aguti*), roedor histricomorfo, a placenta de terço médio e final de prenhez foi descrita como tendo implantação na região mesometrial, sendo conectada ao útero por uma mesoplacenta (RODRIGUES et al. 2003).

Em outros roedores como a cutia (RODRIGUES et al. 2003), a paca (BONATELLI 2005) e o mocó (OLIVEIRA et al., 2006) a placenta de meio e final de prenhez também apresenta inversão do saco vitelínico, com a placenta vitelínica visceral como a membrana mais externa recobrimdo os fetos nesses períodos.

Os resultados obtidos sugerem que a capivara possui uma implantação semelhante ao da guinea-pig, ao qual descreve-se uma implantação anti-mesometrial com invasão na seqüência da face mesometrial da luz uterina (KAUFFAMN; DAVIDOFF, 1977).

A primeira região identificada nas placentas analisadas é a decídua capsular. Na superfície da decídua capsular da capivara em terço inicial, tiras de tecido conectam com a superfície anti-mesometrial do útero, este achado pode ser resultado de uma transição tecidual de uma face a outra do útero, ou simplesmente

a manutenção de uma conexão que houve anteriormente. Particularmente este tecido não foi analisado na histologia, de forma que não se pode afirmar a natureza destas tiras, tampouco se no interior destas haviam vasos sanguíneos.

Em camundongo a decídua mesometrial, descrita por Vercruyssen et al. (2006), mostra-se em grande parte necrosada, no 21º dia de prenhez. Particularmente na Fêmea 04, a decídua capsular esta mais espessa e densa do que nas em estágio de desenvolvimento placentário mais avançado, as quais apresenta-se mais fina e transparente. As descrições da placenta de capivara de termo não relatam a decídua capsular, mas sim uma placenta vitelínica recobrando o feto (MIGLINO et al., 2002). O desaparecimento progressivo da decídua durante o desenvolvimento placentário, sugere que ocorra a degradação desta tornando-se uma fina membrana. Já em estudos realizados na guinea-pig (KAUFFMAN; DAVIDOFF, 1977) a decídua capsular sinaliza uma completa degeneração durante o desenvolvimento placentário, com conseqüente exposição da placenta vitelínica visceral para a luz do útero, como conseqüência da chamada inversão do saco vitelínico, o que contradiz os achados nas capivaras analisadas e nas descritas por Miglino et al. (2002)

Welsh e Enders (1985) comentam que as células da decídua nos camundongos na porção antimesometrial são binucleadas e as da face mesometrial são pequenas, mais irregulares na forma e uninucleadas. Lateralmente as células deciduais, estão em expansão os vasos "sinus", que tem quantidade massiva de glicogênio e estão ocasionalmente binucleada. Na capivara a decídua antimesometrial é chamada de decídua capsular, sendo composta por tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado e revestido por epitélio simples cúbico baixo.

Wooding e Flint (1994) definem a decídua como a parte materna do endométrio, sendo que a zona inicial produz uma faixa semicontínua entre o trofoectoderma e o miométrio. A maior perda das células deciduais mesometriais está nas áreas de interações feto-maternal, que ocorreram durante a invasão do trofoblasto para formar placenta hemocorial. A área das células decidual (WOODING; FLINT, 1994) é rapidamente aumentada do lúmen uterino para fora do miométrio e pode ser visualizada a célula decidual, através da reação de fosfatase alcalina e ácido periódico de Schiff (PAS). O máximo desenvolvimento da população

da decídua ocorre em início de prenhez, eventualmente pode ocupar a maior parte do estroma uterino ao redor do concepto do rato.

Abrahmansohn (1983) descreve nas camundongas a decídua compacta, e com algumas diferenças morfológicas observadas em várias células, em dias gestacionais diferentes. O processo de decidualização ocorre no estroma subepitelial junto ao miométrio. O crescimento ocorre pelo resultado de mitoses, que aumentam de volume para transformar-se em novas células. As células intermediárias, ou seja, pré-decíduais são células novas que sofreram modificações, e possuem morfologia similar a das células do estroma. Particularmente sobre a decídua é descrito em camundongos, que a abundância de junções e o restrito espaço intercelular favorecem as suposições sobre o papel da decídua como barreira para a invasão de trofoblasto e para a migração de células envolvidas na resposta imunológica. A decídua se forma em roedores (WOODING; FLINT, 1994) através das células do estroma e caracterizam-se por envolver-se no crescimento da célula o trofoblasto e seus derivados, como as células gigantes. Para provar na capivara o que estes autores descreveram é necessária maior investigação em capivaras em estágios iniciais de implantação do blastocisto.

A decídua mesometrial em camundongas é descrita por Vercruyssen et al. (2006) por estar sempre inclusa no miométrio ou no triângulo mesometrial. No dia 18º a decídua geralmente está em sítios de tamanho menor e mostra-se pouca degeneração. No endométrio decidualizado de paca é possível distinguir o limite bem delimitado do endométrio comprometido e do endométrio íntegro. O perímetro é formado por uma camada espessa de células decíduais musculares lisas, não sendo identificadas células com fenótipo de trofoblasto (BONATELLI et al., 2005).

A decídua a fresco da capivara início de prenhez, a coloração é esbranquiçada que se mantém após fixação em formol. Esta área é facilmente removida do restante do útero e está conectada a este por vasos sanguíneos. Na Fêmea 03, considerada com prenhez mais adiantada daquelas analisadas, uma área intermediária de coloração amarelada, foi observada. Histologicamente na apresenta-se a área de decídua basal correspondia à porção uterina da placenta em que está inserida na face mesometrial dos úteros analisados, externamente uma faixa de tecido conjuntivo denso com fibras e fibroblastos organizados paralelamente, enquanto que a região central tornava-se desorganizada. Na região central observa-se grandes vasos sanguíneos, áreas com massas trofoblásticas

afastadas do tecido placentário, pequenas células deciduais e grandes células deciduais .

As placentas vitelínicas descritas no mocó (OLIVEIRA et al. 2006), na capivara (MIGLINO et al. 2002) e na paca (BONATELLI et al., 2006), possuem aspecto viloso macro e microscopicamente. O mesênquima forma a parede do saco vitelínico dispõe-se formando estruturas vilosas, contendo mesênquima e vasos sangüíneos. A vascularização da placenta vitelínica é citada por Mossman (1987), Fisher (1971) e Kauffamn e Davidoff (1977), na fase analisada da capivara este desenvolvimento viloso não pode ser observado macroscopicamente, mas estruturalmente foram identificadas pregas recobertas pelo epitélio endodérmico. O que foi observado como pequenos vilos microscópicos provavelmente nas fases subseqüente do desenvolvimento da placenta se tornaram longos e ramificados vilos, identificáveis macroscopicamente, como descrito na placenta de termo de capivara (MIGLINO et al. 2002). A inserção marginal da placenta vitelínica, sobre a face fetal da placenta principal, foi comum ao descrito para outros roedores que apresentam inversão do saco vitelínico, incluindo uma área com concentração de conjuntivo formando um anel fibrovascular, como no mocó (OLIVEIRA et al. 2006)

Com relação à porção parietal da placenta vitelínica, a qual reveste a superfície lateral da placenta principal, as características histológicas deste epitélio foram comuns às descritas para o mocó (OLIVEIRA et al.; 2006). A membrana de Reichert's localiza-se abaixo deste endoderma vitelínico e a camada de espongiotrofoblasto e o de sinciotrofoblasto marginal dispõem-se entre estes e os lóbulos da placenta principal.

Na placenta vitelínica a imunomarcagem do endoderma para citoqueratina e do endotélio vascular e células mesenquimais para a vimentina e alfa-actina de músculo liso também foi descrita na placenta do *Mustela vison* (WINTHER, et al.,1999). A marcação endotelial permitiu identificar a comprovar distribuição de vasos sanguíneos nesta região. A citoqueratina não marcou o endoderma o saco vitelínico. Vimentina foi positiva para o mesênquima. (MIGLINO et al., 2002)

Ao redor do feto a membrana amniótica, macroscopicamente transparente, insere-se na superfície da placenta principal e este fato também é descrito no mocó, na paca (BONATELLI, 2005) e cutia (RODRIGUES et., 2003).

Com relação à placenta principal, o formato discóide ou esférico, típico dos roedores, já pode ser identificado na capivara nas placentas com embriões de

11,5mm e esta característica tornou-se mais pronunciada naquelas consideradas em estágio posterior com fetos de 55 e 58 mm. Este formato discóide é citado em roedores como guinea-pig (KAUFMAN; DAVIFOFF, 1977), nutria (HILLEMANN; GAYNOR, 1961.), paca (BONATELLI, et al, 2006.) e em capivaras de termo (MIGLINO et al., 2002). Já na cutia, a forma da placenta é esférica (RODRIGUES et al, 2003).

As reações positivas para citoqueratina, vimentina e alfa-actina de músculo liso na placenta principal comprovaram a organização estrutural destas regiões. As imunomarcações identificaram no labirinto dos lóbulos uma intensa capilarização fetal disposta próxima ao sinciotrofoblasto recobrimdo lacunas maternas.

Nas observações das capivaras em início prenhez comparando com os descritos por Miglino et al. (2002), a disposição dos lóbulos da placenta principal é possível na fase ser identificar a formação do centro do lóbulo e da organização dos lóbulos. No centro dos lóbulos ou naquelas regiões que correspondem ao que será o centro do lóbulo, grandes vasos são identificados comunicando-se com o sistema de lacunas maternas que permeia o labirinto.

As áreas de sinciotrofoblasto interlóbulo dispostas entre os lóbulos estão em maior proporção do que as observadas em placentas de meio e final de prenhez. Os lóbulos surgem na face voltada para o feto e que os grandes vasos dispostos nestas áreas são envolvidos pelo labirinto que esta sendo organizado. A disposição radial em torno destes vasos já pode ser observada em fetos de capivara com 55 mm de crown-rump. A proporção entre áreas de labirinto e áreas de interlóbulo ou de sincício com estas características também já sofrem modificações de uma placenta com embrião de 11,2mm para uma placenta com feto de 58mm. Nesta última, os lóbulos já estão organizados e observam-se menos áreas de interlóbulo. Estas observações sugerem que estas áreas vão sendo confinadas entre os lóbulos e nas placentas mais desenvolvidas resultam em pequenas áreas com grandes vasos sanguíneos, como descrito na placenta da capivara de termo (MIGLINO et. al 2002), paca (BONATELLI et al, 2006), mocó (OLIVEIRA et al, 2006) e cutia (RODRIGUES et al, 2003).

Apesar da distribuição microvascular da placenta não ter sido abordada nos resultados deste trabalho, acredita-se que o padrão de haver artéria materna e veia fetal no centro dos lóbulos e de veia materna e artéria fetal no interlóbulo, permitindo

que no labirinto o fluxo sanguíneo corra em sentidos opostos (MIGLINO et al 2002), estejam sendo formados nestas fases do desenvolvimento placentário analisados.

As fêmeas estudadas estão em início em de gestação, mas apresentam diferenças no desenvolvimento da estrutura da placenta principal, Na fêmea 04 a arquitetura lobular está iniciando a radiação em torno dos grandes vasos e o labirinto está composto por capilares sem orientação radias Já nas placentas das fêmeas 03 e 06, as áreas de labirinto e de interlóbulo estão bem diferenciadas, com orientação das lacunas maternas no labirinto de forma paralela entre si e elaboração dos lóbulos. Particularmente na fêmea 03 a área de placenta principal mostra-se muito mais desenvolvida com lóbulos mais distintos. Miglino et al., (2002) descreve que a placenta de capivara a termo é estruturada em lóbulos, sendo que a maior parte destes é constituída pelo labirinto que é formada por colunas de células trofoblásticas que delimitam as lacunas de sangue materno. A disposição do labirinto confere o aspecto radial do centro para a periferia. Com isso, comparando os resultados da capivara em início de prenhez com a de terno (MIGLINO et al., 2002), é notável a diferença do desenvolvimento das estruturas da placenta principal em desenvolvimento, ou seja, os animais analisados estão em processo de desenvolvimento do labirinto.

A organização do labirinto aqui provavelmente ainda não permite um fluxo de corrente cruzada como descrito por MIGLINO et al. (2002), pela organização tridimensional do sistema capilar e lacunar ainda não obedece a um sentido radial em relação ao centro do lóbulo e tampouco haver paralelismo entre os dois sistemas sanguíneos (materno e fetal) no labirinto.

Análises imunohistoquímicas de capivara, paca e cutia com vimentina, na placenta principal, o labirinto e as áreas interlobulares, a citoqueratina é positiva na capivara, cutia e paca para sinciotrofoblasto do labirinto. Nem todo o labirinto trofoblástico esta marcado positivo para citoqueratina, apenas os próximos aos vasos maternos. Citoqueratina positiva nas áreas de labirinto e interlóbulo nas células do sinciotrofoblasto. Alfa-actina de músculo liso positiva para o endotélio dos capilares do labirinto, e nos vasos do labirinto, e reações negativas nas lacunas de interlóbulo.

Outra região de extrema importância na placenta dos roedores histricomorfos é a subplacenta, que surge no início da prenhez e regride durante os últimos estágios do desenvolvimento (KING, 1982) e esta disposta entre a placenta

principal e a decídua basal, esta região tem sido motivo de vários estudos em algumas espécies em particular, com o objetivo de inferir suas funções. Tanto na paca (BONATELLI, 2005), quanto na cutia (RODRIGUES et al. 2006) e no mocó (OLIVEIRA 2005) em final de prenhez, a subplacenta foi observada, no entanto em capivaras de termo esta região praticamente desapareceu (MIGLINO et al., 2002). Na nutria (*Myocastor coypus*) a subplacenta persiste até o final da prenhez como uma área lobular grande, sem cavidade, e ocupa uma área central no disco placentário (HILLEMANN; GAYNOR, 1961). O desenvolvimento da subplacenta é marcado por um aumento na espessura e convolução das lamelas de citotrofoblasto que forma o assoalho da concavidade denominada "escavação central", este evento ocorre na fase inicial do desenvolvimento da subplacenta da viscacha (*Lagostomus maximus*) e é observado em fases mais tardias do desenvolvimento subplacentário no cuis (*Galea musteloides*), chinchila (*Cavia porcellus*) e coypu. (*Myocastor coypus*) (ROBERTS; PERRY, 1974)

A subplacenta é composta principalmente de cito e sinciciotrofoblasto, caracteristicamente não possui vascularização materna ou células de origem materna entremeadas em seus lóbulos. A subplacenta na cobaia (DAVIES et al., 1961a), na cutia (RODRIGUES et al, 2006), na paca (BONATELLI, 2005), no mocó (OLIVEIRA et al, 2006) e na capivara (MIGLINO et al 2002) esta localizada próxima a placenta principal, delimitada por tecido mesênquimal de origem fetal, região esta chamada de zona de transição.

Na paca (BONATELLI, 2005) é uma estrutura cuneiforme, cuja base mantém uma íntima relação com a placenta principal e seu ápice esta inserida no endométrio. A presença de células trofoblásticas não se restringe ao interior da subplacenta na paca. Encontra-se em animais de terço médio e final de prenhez a marcação de PAS fraca ou ausente para citotrofoblasto, enquanto que positiva para as células sinciciais no interior da subplacenta.

Oliveira et al. (2006) observaram que a subplacenta de mocó é um órgão acessório que permanece durante toda gestação, embora possa apresentar áreas de degeneração a termo. A subplacenta é composta por lóbulos e por trofoblasto de natureza sincicial e celular. Demonstra em seu estudo a localização das células sinciciotrofoblásticas da subplacenta centralmente aos lóbulos, onde possuem núcleos mais regulares que os do labirinto e aspecto irregular, com áreas de degeneração celular.

A subplacenta descrita em cobaias (DAVIES et al.,1961a) apresenta o sinciotrofoblasto mais compacto na camada citotrofoblástica, e mais vacuolizado em direção a decídua e também na margem da subplacenta (DAVIES et al.,1961b). Para Roberts e Perry (1974) no final da prenhez a regressão da subplacenta é evidente pela redução em espessura do citotrofoblasto e a pela ausência de figuras mitóticas, embora a subplacenta ainda evidente na placenta de termo e, portanto, a degeneração raramente está completa. Rodrigues et al. (2006) descrevem que a subplacenta está recoberta por um tecido amorfo, próximo ao estroma endometrial, contendo resíduos de células degeneradas. Lateralmente encontram-se vasos sanguíneos, onde suas paredes não apresentam endotélio e são revestidas por massa de células gigantes ou multinucleadas. Características estas observadas nas placentas analisadas.

Microscopicamente, a subplacenta apresenta organizada em projeções lamelares irregulares, as quais possuem um eixo de tecido mesênquimal fetal. Este eixo esta recoberto por uma camada contínua de citotrofoblasto e o sinciotrofoblasto, Na região entre a decídua e a subplacenta, chamada de zona juncional, cita a presença de células trofoblásticas do tipo gigantes, multinucleadas, podendo estar isoladas ou agregadas. Na subplacenta de guinea-pig a zona de transição ou intermediária é muito modificada pela condensação e fusão dos núcleos sinciciais, e formava massas intensamente basofílicas e irregulares (DAVIES et al.,1961b). Na zona de transição entre a subplacenta da paca (BONATELLI, 2005) e decídua basal, células trofoblásticas multinucleadas isoladas ou em agregados espalhadas no tecido endometrial e junto aos vasos sanguíneos e na zona juncional da paca entre a subplacenta e as lamelas, as células trofoblásticas gigantes também estavam presentes em perfilados agregados descontínuos que à medida que se afastaram da subplacenta tornaram-se mais amplos.

Para Hillemann e Gaynor (1961) a subplacenta não é considerada como um órgão para troca de substâncias materno-fetais, portanto, a vascularização desta região pare servir somente para nutrição do tecido da subplacenta. Sugere Bonatelli (2005) que a subplacenta estivesse envolvida na transferência de nutrientes da decídua para o feto. Além disso, a função da subplacenta nos histicomorfos ainda é desconhecida (LUCKETT; MOSSAN, 1981).

Rodrigues et al., 2006 descreve organização da subplacenta é semelhante na cutia, assim como Bonatelli (2005) para as pacas e cita que nas regiões mais internas da subplacenta, não é possível distinguir o tecido materno e o espaço interlamelar ocupado predominantemente pela massa de sinciotrofoblasto entremeada por tecido amorfo acelular. Nas em terço médio de prenhez o espaço interlamelar está ocupado predominantemente pelo sinciotrofoblasto, porém em algumas áreas possuem material amorfo e restos celulares de origem provavelmente materna.

A vascularização do sincício da subplacenta de cobaias difere da placenta corioalantóica, pois é uma região exclusivamente vascularizada por meio de vasos de origem fetal e contém, em vez de canais de sangue maternos, um sistema de espaços lacunares preenchidos de material amorfo (DAVIES et al., 1961a). Rodrigues et al. (2006) observa que no mesênquima da subplacenta encontram-se vasos sanguíneos com diferentes calibres, parede delgada e recobertos por endotélio. A vascularização da subplacenta na paca (BONATELLI, 2005) comprova a ausência de vasos de origem materna na subplacenta e demonstra uma irrigação oriunda da artéria fetal que, após capilarização na subplacenta, dirige-se para os lóbulos da placenta principal.

Na subplacenta já nesta fase, não se observam vasos maternos dispostos no sinciotrofoblasto e as largas lacunas observadas possuem apenas material amorfo. A composição vascular da subplacenta, comprovada pela imunolocalização da vimentina e alfa-actina de músculo liso, as quais identificam os vasos sanguíneos fetais nos eixos de mesênquima que sustentam o citotrofoblasto, comprova que apenas vasos fetais constituem essa região marcação positiva do cito e do sinciotrofoblasto para citoqueratina.

Na paca (BONATELLI 2005) e na cutia (RODRIGUES et al., 2006) a vimentina apresenta intensa reação positiva no revestimento endotelial dos vasos sanguíneos na subplacenta. A composição vascular na subplacenta não apresenta reação positiva para vimentina nos leitos vasculares que permeiam o tecido materno da interface subplacenta-endométrio

A citoqueratina na subplacenta da paca (BONATELLI, 2005) e na cutia (RODRIGUES et al., 2006) apresenta intensa reação positiva para as células localizadas no citotrofoblasto e no sinciotrofoblasto das lamelas, e com menor intensidade para nas células gigantes localizadas na região mais externa das

lamelas, e negativo para a massa amorfa. Na capivara a reação obtida para citoqueratina é forte para citrofoblasto e fraca no sinciotrofoblasto e nas células gigantes. As camadas de citotrofoblastos nestas fases são de duas ou mais células.

Análises imunohistoquímicas de capivara, paca e cutia com vimentina, na placenta principal, o labirinto e as áreas interlobulares, a citoqueratina é positiva na capivara, cutia e paca para sinciotrofoblasto do labirinto. Nem todo o labirinto trofoblástico está marcado positivo para citoqueratina, apenas os próximos aos vasos maternos. Citoqueratina positiva nas áreas de labirinto e interlóbulo nas células do sinciotrofoblasto. Alfa-actina de músculo liso positiva para o endotélio dos capilares do labirinto, e nos vasos do labirinto, e reações negativas nas lacunas de interlóbulo.

Nas áreas próximas a subplacenta os vasos sanguíneos da decídua tiveram o endotélio e a parede muscular substituídas por células trofoblásticas e grandes células decíduais, caracterizadas pelo tamanho e forma do núcleo, o qual podia ultrapassar 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, e pelo citoplasma eosinófilo e PAS positivo, com até 100  $\mu\text{m}$  de comprimento. As marcações vasculares na decídua basal demonstram que os vasos sanguíneos maternos são invadidos pelo trofoblasto que migra pela decídua. As grandes células decíduais foram localizadas na parede de vaso, bem como células trofoblásticas. Em alguns pontos a vimentina evidenciou que o endotélio está descontínuo e a marcação de alfa-actina demonstra que a parede dos vasos foi substituída restando pequenos pontos ao longo dos vasos. Células decíduais foram positivas para citoqueratina na placenta de camundongos (VERCRUYSSSE et al., 2006). Esta "invasão" provavelmente é o processo pelo qual a placenta ocupa espaço, reduzindo a massa decidual, uma vez que nas placentas de termo de capivara (MIGLINO et al., 2002). Esta região é bem reduzida, restrita a uma fina faixa.

Apesar de vários estudos já realizados em placenta de roedores histricomorfos, estudos mais detalhados das regiões decíduais e subplacenta ainda são necessários, principalmente, para determinar funções endócrinas do trofoblastos da subplacenta e o papel das células decíduais e sua dinâmica.

## *7 Conclusões*

## 7 CONCLUSÕES

1- Após a análise, o útero da capivara é duplo composto por mucosa com glândula suterinas e musculatura espessa.

2- A placenta da capivara é classificada como discoidal, labiríntica, hemocorial com subplacenta e o terço inicial de prenhez apresenta as seguintes regiões: decídua (capsular e basal), placenta vitelínica (visceral e parietal), placenta principal, subplacenta e âmnio.

3- A decídua capsular no terço inicial da prenhez é espessa e densa e degenera ao longo da prenhez.

4- A placenta vitelínica insere-se na superfície da placenta principal em suas margens projetando-se completamente sobre o embrião e o âmnio e torna-se a membrana externa da placenta com a degeneração da decídua capsular.

5- O âmnio caracterizado como uma membrana fina que envolve o embrião ou feto, com epitélio pavimentoso com células com núcleos achatados.

6- A placenta principal é discóide e lobulada. Os lóbulos formam-se na face fetal e ao desenvolver-se irradiam para o centro. Comparando os resultados da capivara em início de prenhez com a de terno é notável a diferença do desenvolvimento das estruturas da placenta principal em desenvolvimento, ou seja, os animais analisados estão em processo de desenvolvimento do labirinto.

7- Já nas fases iniciais da formação do labirinto, a imunomarcção da vimentina, alfa-actina e citoqueratina comprovaram a organização do labirinto e interlóbulo.

8- A subplacenta localizada entre a placenta principal e a decídua basal. A zona de transição entre a placenta principal e subplacenta constituída por tecido conjuntivo fetal e vasos sanguíneos. A zona juncional está posicionada entre a subplacenta e a decídua.

9- A decídua basal possui vasos sanguíneos maternos cujo endotélio é substituído por trofoblasto.

10- A organização estrutural da placenta de terço inicial de capivara compartilha as descrições para o período de desenvolvimento correspondente em guinea-pig

*Referências*

## REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSOHN, P. A. Ultrastructural study of the mouse antimesometrial deciduas. **Anatomy and Embriology**, v. 116, n. 2, p. 263-274, 1983.
- ADAMSON, S. L.; LU, Y.; WHITELEY, K. J.; HOLMYARD, H. M.; PFARRER, C.; CROSS, J. C. Interations between trophoblast cells and the maternal fetal circulation in the mouse placenta. **Developmental Biology**, v. 205, p. 358-373, 2002.
- ALHO, C. J. R.; CAMPOS, Z. M. S.; GONÇALVES, H. C. Ecologia da capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*, Rodentia) do pantanal: I habitats, densidades e tamanho de grupo. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 1, p. 87-97, fev./maio, 1987a.
- ALHO, C. J. R.; CAMPOS, Z. M. S.; GONÇALVES, H. C. Ecologia da capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*, Rodentia) do pantanal: II atividade, sazonalidade, uso do espaço e manejo. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 2, p. 99-110, fev./maio, 1987b.
- AMOROSO, E. C. Placentation. In: PARKERS, A. S. **Marshall's physiology of reproduction**. 3. ed. Londres: Longmans, 1952. v. 2, n.128, p. 272-274.
- BARBELLA, S. L. Consideraciones generales sobre la gestación del chiguire (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Acta Científica Venezolana**, Caracas, v. 38, p. 84-89, 1987.
- BARBELLA, S. L. Determinación del ciclo estral em chiguire (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Acta Científica Venezolana**, Caracas, v. 33, n. 6, p. 497-501, 1982.
- BARBELLA, S. L. Puberdade em hembras chiguire (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Revista de la Facultad de Agronomía**, Venezuela, v. 19, n. 2, p. 121-127, 1993.
- BECK, L.; D'; AMORE, P. A. Vascular development: cellular and molecular regulation. **Journal FASEB**, v. 11, p. 365-373, 1997.
- BONATELLI, M. **A subplacenta da paca (*Agouti paca*, Linnaeus 1766)**. 2005 128 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- BONATELLI, M.; CARTER, A. M.; MACHADO, M. R.; OLIVEIRA, M. F.; LIMA, M. C.; MIGLINO, M. A. Placentation in the paca (*Agouti paca*, Linnaeus, 1966). **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 3, 2005. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=15737234>>. Acesso em: 18 ago 2006.

CARLETON, M. D. **Orders and families of recent mammals of the world**. New York: J. Knox Jones Jr, 1984. cap. 9, p. 255-265.

CARTER, A. M.; ENDERS, A. C. Comparative Aspects of trophoblast development and placentation. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 2, p. 46, 2004.

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

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

DAVIES, J.; DEMPSEY, E. W.; AMOROSO, E. C. The subplacenta of the guinea pig: development, histology and histochemistry. **Journal of Anatomy**, v. 95, n. 4, p.457-473, 1961b.

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

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

EVANS, H. E.; SACK, W. O. Prenatal Development of Domestic and Laboratory Mammals: Growth Curves, External Features and Selected References. **Anatomy and Histology and Embryology**, v.2, p.11-45. 1973.

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

GULBIS B.; JAUNIAUX, E.; COTTON, F.; STORDEUR, P. Protein and enzyme patterns in the fluid cavities of the first trimester gestacional sac: relevance to the absorptive role secondary yolk sac. **Molecular Human Reproduction**, v. 9, p. 857-862, 1998.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7.ed.. Manole: São Paulo, 2004. p.513.

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

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

JIMÉNES, E. G. El capibara (*Hydrochoeris hydrocaeris*). Estado actual de su producción. **Estudo FAQ Producción y Sanidad Animal**, Roma, n.122, p. 6, 7, 48, 1995. Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/004/V4590S/V4590S01.htm#ch1.1>>. Acesso em: 25 fev. 2006.

KAUFMANN, P.; BURTON, G. Anatomy and genesis of the placenta. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The Physiology of Reproduction**. 2. ed. New York, 1994.

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

KING, B. F. Comparative anatomy of the placental barrier. **Bibliotheca Anatomica**. n. 22, p.13-28, 1982.

LAVORENTI, A. Domesticatoin and potencial for genetic improvement of capybara. **Revista Brasileira de Genética**, Piracicaba, v. 12, p. 137-144, 1989. Suplementum 3.

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

LOPEZ, B., S. Uma contribución al conocimiento de la reproduccion del chiguire (*hydrochoerus hydrochaeris*). **Boletin del Informe Anual del IPA (Instituto de Producción Animal)**, p. 109-117, 1984.

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

MATAMOUROS, Y.; PASHOV, B. Ciclo estral del tepezcuinte (*Cuniculus paca*, Brisson) em cautiverio. **Brenesia**, San jose, v. 6, p. 249-260, 1982.

MIGLINO, M. A.; CARTER, A. M.; AMBROSIO, C. E.; BONATELLI, M.; OLIVEIRA, M. F.; SANTOS, R. H.; FERRAZ, R. F.; RODRIGUES, R. F.; SANTOS, T. C. Vascular organization of the hystricomorph placenta: a comparative study in agouti, capybara, guinea pig, paca and rock cavy. **Placenta**, v. 25, p. 438-448, 2004.

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

MOSSMAN, H. W. **Vertebrate fetal membranes** : comparative ontogeny and morphology, evolution, phylogenetic significance, basic functions, research opportunities . New Brusnick: Rutgers University Press, 1987, 383 p.

MOSSMAN, H. W.; HISAW, F. L. The fetal membranes of the pocket gopher, illustrating an intermediate type of rodent membrane formation. **American Journal of Anatomy**. v. 64, n. 1, p. 59-109, 1939.

MONES, A.; OJASTI, J. *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Mammalian Species**, n. 264, p. 1-7, 1986.

MOURA, S. G.; CARVALHO, M. A. M.; ARAUJO, W. R.; VIEIRA, R. J.; ALMEIDA, M. M.; OLIVEIRA, M. F. Proposta de classificação para o útero de cutia (*Dasyprocta aguti*, Linnaeus, 1766). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, 2003.

NETO, P. B. S.; LAVORENTI, A.; ALMEIDA, A. F.; MARCHI, A. P.; FERNANDES, M. B. Parâmetros reprodutivos da capivara (*Hydrochoerus hydrocharis*) em cativeiro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27., 1990, Campinas **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p. 457.

ODUOR-OKELO, D.; GOMBE, S. Placentation in the cane rat (*Thryonomys swinderianus*). **African Journal of Ecology**, v. 20, p. 49-66, 1982.

OJASTI, J. Notes on the mating behavior of the capybara. **Journal of mammalogy**, v. 49, n. 3, p. 534-535, 1968.

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

OLIVER, C.; MONTES, C.; GALINDO, C.; RUIZ, C. G. O.; OLIVARES, E. G. Human decidual stromal cells express  $\alpha$ -smooth muscle actin and show ultrastructural similarities with myofibroblasts. **Human Reproduction**, v. 14, n. 6, p.1599-1605, 1999.

PARRA, R.; ESCOBAR, A.; GONZALEZ, J. E. El chiguire su potencial biológico y su cria en confinamiento. **Boletín del Informe Anual del IPA (Instituto de Producción Animal)**, p. 83-94, 1978.

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

ROBERTS C. M.; PERRY J. S. Hystricomorph Embryology. **Symposium of Zoological Society of London**, n. 34, p. 333-360, 1974.

RODRIGUES, R. F.; MIGLINO, M. A.; FERRAZ, R. H. S.; MORAIS-PINTO, L. Placentação de cutias (*Dasyprocta aguti*, CARLETON, M. D.): aspectos morfológicos. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, v. 40, n. 2, p. 133-137, 2003.

- RODRIGUES, R. F.; CARTER, A. M.; SANTOS, T. C.; MIGLINO, M. A. The subplacenta of red-rumped agouti (*Dasprocta leporina* L). **Reproductive Biology and Endocrinology**, 2006. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=16740154>>. Acesso em: 18 ago. 2006.
- SILVA, C. L.; PERDOMO, F. Algunos aspectos anatómicos e histológicos del genital femenino del chiguire (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Revista de la Facultad de Ciências Veterinárias**, v. 30, n. 1-8, p. 89-97, 1983.
- SOIRON, M. L. **Das Siidamerikanische wasserschwein (Hydrochoerus hydrochaeris, L. 1766)** Physiologisch-anatomische und klinische untersuchungen unter dem aspect der versuchstierkundlichen eignung. Aachen. Giessen. 1993. 133 f. Tese (Doutorado) – Fachbereich Veterinärmedizin, Justus – Liebig – Universität Giessen, Giessen, 1993.
- STEINERT, P. M.; ROOP, D. R. Molecular and cellular biology of intermediate filaments. **Annual Review of Biochemistry**, v. 57, p. 593-625, 1988.
- STEWART, J. R. Yolk sac placentation in reptiles: structural innovatoin in a fundamental vertebrate fetal nutritional system. **Journal Experimental Zoology**, v. 266, n. 5, p. 431-449, 1993.
- TIBBITTS, F. D.; HILLEMANN, H. H. The development and histology of the chinchilla placenta. **Journal Morphology**, v. 105, p. 317-365, 1959.
- VERCRUYSSSE, L.; CALUWARTS, C.; LUYTEN, C.; PIJENENBORG, R. Interstitial trophoblast invasion in the deciduas and mesomerial triangle during the last third of pregnancy in the rat. **Placenta**, v. 27, p. 22 -23, 2006.
- WELSH, A. O.; ENDERS, A. C. Light and microscopic examination of the mature decidual cells of the rat with emphasis on the antimesometrial deciduas and its degeneration. **American Journal of Anatomy**, v. 172, n. 1, p. 01-29, 1985.
- WINTER, H.; LEISER, R.; PFARRER, C.; DANTZSER, V. Localization of micro- and intermediate filaments in non-pregnant uterus and placenta of the mink suggests involvement of maternal endothelial cells and periendothelial cells in blood flow regulation. **Anatomy and Embryology**, v. 200, p. 253-263, 1999.
- WOODING, F. B. P.; FLINT, A. P. F. Placentation. In: LAMMING, G. E. **Marshall's physiology of reproduction**. 4. ed. London: Chapman e Hall, 1994. p. 235-460.
- WYNN, R. M. Ultrascture of the deciduitrophoblastic junction of the guinea pig. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 90, p. 690-693, 1964.
- ZARA, J. L. Breeding and husbandry of the capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **International Zoo Yearbook**, Indiana USA, v. 13, p. 137-139, 1973.