

CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA PLACENTA DE ZEBUÍNOS CRIADOS NA AMAZÔNIA ORIENTAL

[Histological characterization of the placenta of zebu cattle raised in Oriental Amazonia, Brazil]

Claudia Marinovic de Oliveira^{1,*}, Alexandre Barbosa de Oliveira², Elaine Magalhães Ramos³, Tânia Vasconcelos Cavalcante⁴, Viviane Mayumi Maruo⁴

¹ Doutoranda pelo Programa de Pós Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres (USP), São Paulo, SP.

² Médico Veterinário responsável pela Fazenda Vale Formoso, Sociedade Agropecuária Imaculada Conceição, Redenção, PA.

³ Mestre pelo Programa de Pós Graduação em Ciência Animal Tropical. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, TO.

⁴ Docentes do curso de Medicina Veterinária UFT e do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, TO.

RESUMO - O trabalho visa analisar as características histológicas da placenta bovina, *Bos taurus indicus* criados na região Oriental da Amazônia. Foram coletados úteros gravídicos entre 4 a 8 meses de gestação. Realizou-se secção dorsal ao longo da cérvix até o corpo do útero. A peça foi invertida para verificação da idade fetal e coleta dos placentônios. Foram coletados placentônios, do corno uterino gestante e não gestante com forma oval, circular e em fusão. Em seguida as peças foram fixadas em solução de formol a 10%, para posterior preparação histológica em parafina e coloração em hematoxilina-eosina. Os placentônios apresentavam um estroma endometrial bem desenvolvido e vascularizado revestindo a carúncula e apresentando lacunas, os cotilédones possuíam vilosidades revestidas por células trofoblásticas uninucleadas e binucleadas. O epitélio da mucosa era do tipo prismático simples e as glândulas do cório próximas ao limite do miométrio possuíam aspecto tortuoso. Carúncula e cotilédone estavam revestidos respectivamente por epitélio cúbico simples e células trofoblásticas em meio à lacunas da placenta. A partir dos 6 meses observou-se um estroma fibrovascular compacto. Concluiu-se que a placenta mesmo possuindo diversidade anatômica entre as estruturas encontradas, apresenta características histológicas semelhantes em todos os períodos gestacionais estudados, e o crescimento dos placentônios no decorrer da gestação parece estar relacionado com a multiplicação das células que formam os cotilédones e carúnculas, bem como da vascularização.

Palavras-Chave: Placenta, útero, vaca zebu, células trofoblásticas gigantes.

ABSTRACT - The aim of the present work was to analyze the histological characteristics of placenta of zebu, *Bos taurus indicus*, raised in the Oriental Amazon. Pregnant uteri from 4 to 8 months of gestation were collected. Samples were sectioned from the cervix to the body of the uterus. Samples were inverted for fetal age verification and to collect the placentomes. Placentomes were collected from pregnant and non-pregnant oval, circular and fusion uterine horns. Then, they were fastened in formalin solution 10% for subsequent histological preparation in paraffin and hematoxylin-eosin for coloration. Histologically, the endometrium was well developed with vascular covering of the caruncle and presenting gaps. The cotyledone had villous covered by trophoblast uninucleated and binucleated giant cells. The mucosal epithelium was simple prismatic and corium glands in the limit of the myometrium presented tortuous appearance. Caruncule and cotyledone were covered respectively by simple cubic epithelium and trophoblast giant binucleate cells. A compact fibrovascular estrome was formed from the 6th month of pregnancy. It was concluded that, even having anatomical differences among found structures, the placenta presents similar histology in all periods studied, and placentomes growth during gestation seems to be related to the multiplication of cells that make up the cotyledons and caruncule, as well as vascularisation.

Keywords: Placenta, uterus, zebu cow, trophoblast giant cells.

* Autor para correspondência. E-mail: claudmarinovic@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

Os bovinos das raças denominadas zebuínas apresentam-se como maioria na pecuária brasileira. Sua rusticidade, alto desempenho reprodutivo, grande adaptabilidade ao clima tropical, resistência e fácil manejo, tem feito desta espécie a mais difundida no país (Navarro, 2002; AVCZ, 2009).

A placenta cotiledonária ou múltipla é característica dos ruminantes. Em vez das vilosidades coriônicas serem uniformemente distribuídas por toda a superfície do cório, estas aparecem agrupadas em regiões circulares bem definidas denominadas cotilédones. Estes cotilédones se desenvolvem em regiões onde o cório faz contato com áreas predeterminadas do endométrio, aglandulares, conhecidas como carúnculas que são espessamentos do tecido sub-epitelial do útero, presentes mesmo em vacas não gestantes. O cotilédone fetal e a carúncula materna formam a unidade conhecida como placentônio (Miglino, 1991), estes variam em número nas diferentes espécies de ruminantes e é o único ponto de trocas materno-fetais. O cório intercotiledonário permanece desprovido de vilosidades e desligado do endométrio (Santos e Marques, 1996; Pinto, 2002; Lacerda, 2006; Prestes e Alvarenga, 2006).

A relação proveniente entre os tecidos fetal e materno no local de intercâmbio permite a classificação da placenta nos ruminantes, como sinepiteliocorial. Investigações realizadas com microscopia eletrônica na placenta dos ruminantes mostram que células bi nucleadas do cório fetal migram formando um sincício na união do tecido materno com o fetal. O prefixo “sin” refere-se à presença das células derivadas do sincício e “epiteliocorial” refere-se à área de justaposição do tecido materno (Martal e Cédard, 1993; Wooding, 1992).

Durante a gestação, o útero passa por intensas alterações, a fim de acomodar o crescimento do concepto. A placenta sofre intenso e rigoroso processo de proliferação celular ao longo da gestação. Sua regulação exige balanço entre fatores promotores ou inibidores do ciclo celular (Bamberger et al., 1999; Correia da Silva et al., 2004; Pfarrer et al., 2006). Nesse período, qualquer comprometimento na formação e desenvolvimento placentário prejudica o desenvolvimento fetal e o sucesso da gestação (Redmer et al., 2004), o que comprova a necessidade da avaliação das alterações histológicas que ocorrem na placenta ao longo da

gestação, permitindo apontar o fator ambiental como um importante ponto a ser considerado.

O clima na região da Amazônia Oriental se apresenta úmido sob a influência da baixa latitude, as temperaturas mantêm-se elevadas durante todos os meses do ano, possui altos níveis de eficiência térmica durante todo o ano, razão pela qual é caracterizada por clima Megatérmico. As chuvas, apesar de regulares, não se distribuem igualmente durante o ano, sendo o período de maior índice pluviométrico o verão (maio a agosto), implicando grandes excedentes hídricos e, conseqüentemente, com grandes escoamentos superficiais e cheias dos rios. No inverno e outono, ao contrário, observa-se o período menos chuvoso, resultando numa curta estação seca de um a três meses com pequenos déficits hídricos (Amazonia Legal, 2009).

O estudo histológico da placenta de bovinos é amplamente descrito, entretanto a literatura é escassa quando se buscam informações sobre determinadas características histológicas, principalmente quando se pretende um perfil destas para rebanhos regionais. Portanto o presente estudo visa analisar as características histológicas da placenta bovina, *Bos taurus indicus* criados na região Oriental da Amazônia, durante as diferentes fases gestacionais comparando.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados o total de 30 úteros gravídicos de vacas zebuínas, compondo os seguintes grupos animais: 4 meses (seis animais), 5 meses (sete animais), 6 meses (seis animais), 7 meses (cinco animais) e 8 meses (seis animais), abatidas em frigoríficos de Araguaína/TO. Os úteros foram coletados com todo conteúdo, poucos minutos após o abate, por abertura da cavidade abdominal de acordo com as técnicas convencionais utilizadas em frigoríficos. As peças foram seccionadas e as membranas fetais foram expostas e perfuradas removendo desta forma os líquidos fetais e o feto. As peças foram então invertidas para realização da coleta de dados referente à distância cefalococcígea (CR-“Crow-Rump”), para verificação da fase gestacional e idade fetal. Com o auxílio de um paquímetro após a escolha do placentônio, este era medido para verificação do seu tamanho exato. Os placentônios foram classificados de acordo com o tamanho em pequeno (0,5cm a 4,1cm), médio (4,2cm a 7,9cm) e grande (8,0cm a 11,8cm), conforme proposto por Silva (2002) e de acordo com a forma em oval e circular.

A seguir, as peças eram levadas ao laboratório de Anatomia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins - Campus Araguaína, para realização dos cortes para fixação em solução de formol a 10% e envio para processamento histológico de rotina.

Fragmentos dos placentônios de aproximadamente 0,5cm foram imersos em solução de formaldeído a 10% em tampão fosfato (PBS), 0,1 % pH 7,4. O material recebeu, então, os procedimentos da rotina histológica para inclusão. Cortes de 4 ou 5 micrometros de espessura foram corados com hematoxilina e eosina (HE) com posterior observação ao microscópio de luz da marca Quimis® e documentados em sistema VidCap.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as fases dos 4 aos 8 meses de gestação, independente de suas diferenças morfológicas, foram encontradas células trofoblásticas gigantes uninucleadas e binucleadas revestindo as vilosidades que classificam histologicamente a placenta como sinepiteliocorial, formando um sincício na união do tecido materno com o fetal, transformando o epitélio feto-maternal híbrido, corroborando resultados relatados por Wooding, 1992, Martal e Cédard, 1993 e Prestes e Alvarenga, 2006.

Observa-se que as mesmas estruturas primordiais estão presentes em todas as fases de gestação. De fato, as características histológicas das placentas nas diferentes fases da gestação são muito semelhantes, fato relatado por Miglino et al (2007) comparando a placenta normal com a de animais clonados. À visualização microscópica, verifica-se um estroma endometrial bem desenvolvido e vascularizado revestindo a carúncula, os cotilédones possuem vilosidades revestidas por células trofoblásticas uninucleadas e binucleadas. O epitélio da mucosa é do tipo prismático simples e as glândulas do cório com aspecto tortuoso próxima ao limite do miométrio. As células trofoblásticas possuem núcleos arredondados com grandes nucléolos. O epitélio da cripta uterina é cúbico ou achatado, suas células possuem núcleos esféricos e nucléolos bem evidentes (Fig. 1 a,b), semelhante à descrição de Bjorkmam, 1982.

Aos 6 a 7 meses de gestação, é evidenciada carúncula revestida por células colunares intensas vacuolizadas, imbricadas aos

cotilédones, mostrando suas ramificações revestidas por células trofoblásticas. Notam-se vilosidades cotiledonares com eixo fibrovascular (Fig. 1 c, d).

Carúncula e cotilédone estão revestidos respectivamente por epitélio cúbico simples e células trofoblásticas em meio a lacuna da placenta fato observado por Bjorkmam, 1970 e Jainuden e Hafez, 1993 que descrevem os vilos como sendo cones mesenquimatosos vascularizados, revestidos por células trofoblásticas cuboidais ou células principais mononucleares e células gigante com dois ou mais nucléolos. A partir dos 6 meses observa-se um estroma fibrovascular compacto. Segundo Leiser et al. (1997), Bjorkmam (1954, 1969) e Ebert (1993) esse crescimento é necessário para suprir o aumento da demanda de transferência materno-fetal durante a segunda metade da gestação.

Carúnculas são revestidas por epitélio cúbico simples e no interior das lacunas as vilosidades dos cotilédones são infiltradas por células trofoblásticas (Fig. 2 a, b), fatos igualmente descritos por Santos e Marques, 1996; Pinto, 2002; Lacerda, 2006 e Prestes e Alvarenga, 2006.

Assim, as diferenças de tamanho e forma observadas anatomicamente entre os placentônios nas diferentes fases gestacionais parecem ser resultantes da multiplicação das células que formam os cotilédones e carúnculas, bem como da vascularização, assim como a presença das células binucleadas sugere uma maior produção de hormônios placentários, conforme cita Cazerta et al. (2007), dado também constatado por Pereira (2004) e Carvalho (2006).

Contudo, os achados obtidos permitem afirmar que as características histológicas da placenta de zebuínos criados na região Oriental da Amazônia são semelhantes a de outros trabalhos já realizados. Assim, as mesmas estruturas primordiais estão presentes em todas as fases de gestação. De fato, as características histológicas das placentas nas diferentes fases da gestação são muito semelhantes.

CONCLUSÃO

Dessa forma, podemos concluir que a multiplicação das células que formam cotilédones, carúnculas e a vascularização é responsável pelas diferenças de tamanho e forma observadas nos placentônios de diferentes fases gestacionais na placenta de zebuínos oriundos da região da Amazônia Oriental.

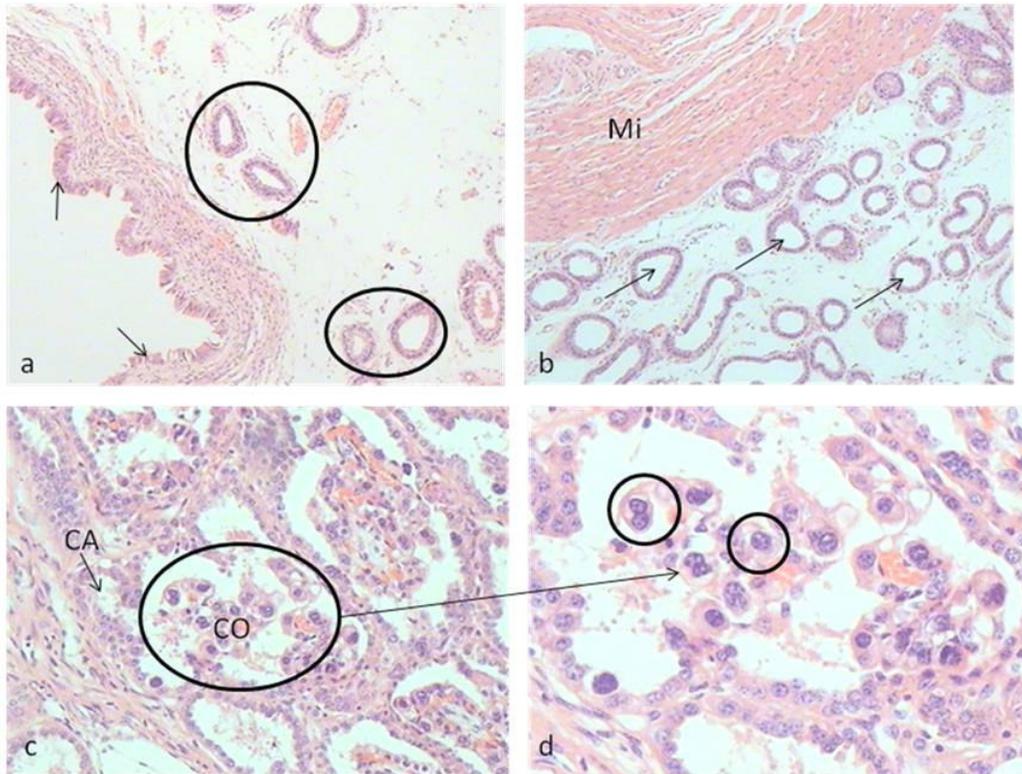


Figura 1. Fotomicrografia de corte histológico do placentônio bovino (a/b) 4 aos 5 meses e (c/d) 6 aos 7 meses de gestação, a) mostrando epitélio da mucosa, do tipo prismático simples (Setas) e glândulas dilatadas no córion esponjoso, HE 40x; b) mostrando numerosas glândulas com aspecto tortuoso (Setas), próximas ao limite do miométrio (Mi), HE 40x; c) carúncula (CA) revestida por células endometriais (Seta) e cotilédone (CO) com células trofoblásticas mononucleadas em meio a lacunas, HE 100x; d) evidenciando carúncula e cotilédone com células trofoblásticas uni e binucleadas, HE 200x.

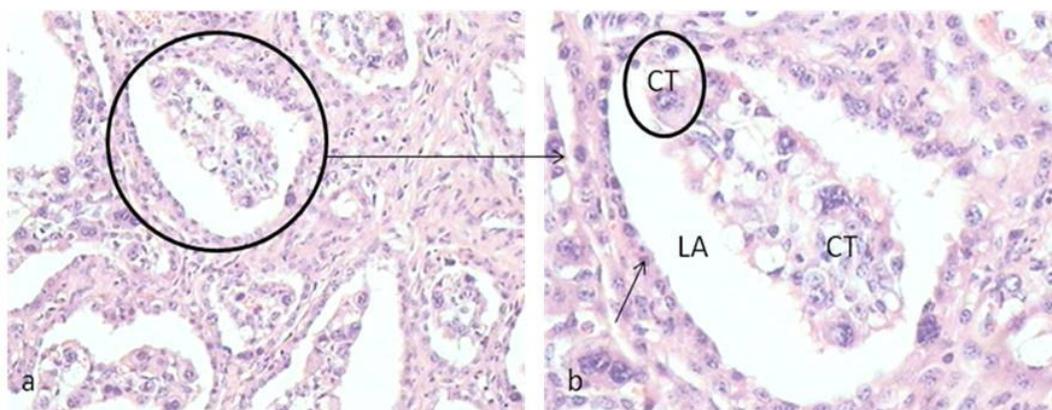


Figura 2. Fotomicrografia de corte histológico do placentônio bovino, aos 8 meses de gestação, a) mostrando carúnculas revestidas por epitélio cúbico simples e no interior das lacunas as vilosidades dos cotilédones, HE 100x; b) mostrando lacunas (LA) da placenta materna, revestida por epitélio cúbico simples (Seta), infiltrada de célula trofoblástica e no centro eixo de vilosidade cotilédonar com células trofoblásticas (CT), HE 200x.

REFERÊNCIAS

- ABCZ. 2009. Disponível em: < <http://www.abcz.org.br/site/abcz/históricophp>. Acesso: 28 de outubro de 2009.
- Amazônia Legal. 2009. Disponível em: < <http://www.noticiasdaamazonia.com.br/amazonia-legal/>. Acesso: 11 de novembro de 2009.
- Bamberger A.M., Sudahl S., Bamberger C.M., Schulte H.M. & Loning T. 1999. Expression patterns of the cell-cycle inhibitor p27 and the cell-cycle promoter Cyclin E in the human placenta throughout gestation: Implications for the control of proliferation. *Placenta* 20: 401-406.
- Björkman N. 1954. Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. *Acta Anatomica Suppl.* 22: 1-91.
- Björkman N. 1969. Light and electron microscopic studies on cellular alterations in the normal bovine placenta. *Anat. Rec.* 163:17-30.
- Björkman N. 1970. An atlas of placental fine structure. *Baillière Tindall & Cassel*, London, 96p.
- Björkman N. 1982. Placentação. In: Delmann H.P. & Brown E.M. *Histologia Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 279-294.
- Carvalho A.F., Miglino M.A., Pereira F.T. & Bevilacqua E. 2006. Binucleate trophoblast giant cells in the water buffalo (*Bubalus bubalis*) placenta. *J. Morphol.* 267: 50-56.
- Cazerta S.M.S., Miglino M.A., Marques R.S., Vulcano M. & Pereira F.T.V. 2007. Caracterização das áreas hemófagas da placenta bovina. *Pesq. Vet. Bras.* 27: 229-235.
- Correia-da-Silva G., Bell S.C., Pringle J.H. & Teixeira N.A. 2004. Patterns of uterine cellular proliferation and apoptosis in the implantation site of the rat during pregnancy. *Placenta* 25: 538-547.
- Ebert B. 1993. Mikrovaskularisation des Rinderplazentoms. Eine resterelek tronen-mikroskopische Studie an Gefäbausgüben in histologischen Vergleich. Giessen, Germany, 74p. Inaugural Dissertation. Veterinary Medicine University.
- Jainudeen M.R. & Hafez E.E.S. 1993. Gestation, prenatal physiology, and parturition. In: Hafez E.S.E. (ed). *Reproduction in farm animals*. 6. ed. Lea & Febiger, Philadelphia, p.213-236.
- Lacerda P.M.O. 2006. Aspectos estereológicos dos vilos coriônicos da placenta de bovinos clonados. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 77p.
- Leiser R., Krebs K., Klisch K., Ebert B., Dantzer V., Schuler G. & Hoffmann B. 1997. Fetal and microvasculature of the bovine placenta in the second half of gestation. *J. Anat.* 191: 517-527.
- Martal J. & Cédard L. 1993. Endocrine functions of the Placenta. In: Thibault C., Levasseur M.C. & Hunter R.H.F. (Eds.). *Reproduction in Mammals and Man*. Paris, Ellipses, p.435-459.
- Miglino M.A. 1991. Pesquisa anatômica sobre artéria e veias do cordão umbilical, sua ramificação e disposição na placenta de bovinos. Tese (Livre Docência). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 303 p.
- Miglino M.A., Pereira F.T.V., Visintin J.A., Garcia J.M., Meirelles F.V., Rumpf R., Ambrósio C.E., Papa P.C., Santos T.C., Carvalho A.F., Leiser R. & Carter A.M. 2007. Placentation in cloned cattle: Structure and microvascular architecture. *Theriogenology* 68: 604-617.
- Navarro S.D. 2002. Bovinos Nelore (*Bos indicus*) e Bubalinos (*Bubalis bubalis*). São estes animais resistentes a retenção de placenta? Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 118p.
- Pereira F.T.V. 2004. Eritrofagocitose placentária em búfalos (*Bubalus bubalis bubalis* Simpson, 1945) Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 102p.
- Pfarrer C., Weise S., Berisha B., Schams D., Leises R., Hoffmann B. & Schuler G. 2006. Fibroblast growth factor (FGF) - 1, FGF receptors are uniformly expressed in trophoblast giant cells during restricted trophoblast invasion in cows. *Placenta* 27: 758-770.
- Pinto L.M. 2002. Caracterização da célula binucleada na placenta de vacas Nelore (*Bos indicus*- Linnaeus, 1958). Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, São Paulo, 87p.
- Prestes N.C. & Alvarenga F.C.L. 2006. Obstetrícia Veterinária. Editores da Série Roberto Calderon Gonçalves, Luiz Carlos Vulcano. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 241p.
- Redmer D.A., Wallace J.M. & Reynolds L.P. 2004. Effect of nutrient intake during pregnancy on fetal and placental growth and vascular development. *Dom. An. Endocrinol.* 27: 199-217.
- Santos R.L. & Marques Junior A.P. 1996. Morfologia da Placenta Bovina. *Cadernos Técnicos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG*, 15: 27-36.
- Wooding F.B.P. 1992. Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleated cell fusions and hormone production. *Placenta* 13: 101-113.