

PHELIPE OLIVEIRA FAVARON

**Placentação em roedores da família Cricetidae –
Sigmodontinae**

**São Paulo
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PHELIPE OLIVEIRA FAVARON

**Placentação em roedores da família Cricetidae –
Sigmodontinae**

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

Orientador:

Profa. Dra. Maria Angélica Miglino

**São Paulo
2009**

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2131
FMVZ

Favaron, Phelipe Oliveira

Placentação em roedores da família Cricetidae – Sigmodontinae /
Phelipe Oliveira Favaron. – São Paulo : P. O. Favaron, 2009.
125 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia,
2009.

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

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Maria Angélica Miglino.

1. Placenta. 2. Barreira placentária. 3. Placenta vitelina.
4. Sigmodontinae. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

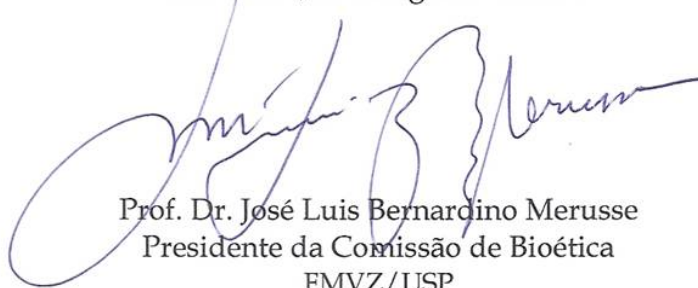
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Placentação de roedores da família Cricetidae - Sigmodontinae", protocolado sob o nº 1148/2007, utilizando 20 (vinte) animais, sendo 04 (quatro) de cada espécie: *Bolomys lasiurus*, *Oligoryzomys* sp., *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp. e *Oryzomys megacephalus*, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Maria Angélica Miglino, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 22/08/07.

We certify that the Research "Placentation in rodents of family cricetidae-sigmodontinae", protocol number 1148/2007, utilizing 20 (twenty) animals, under the responsibility Profa. Dra. Maria Angélica Miglino, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 08/22/2007.

São Paulo, 22 de agosto de 2007.



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

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: FAVARON, Phelipe Oliveira

Título: Placentação em roedores da Família Cricetidae – Sigmodontinae

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

Data: _____ / _____ / _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

À minha mãe **Vilma de Oliveira** e
aos meus irmãos **Pedro Antônio** e **Leandro dos Santos**. Por
estarem sempre ao meu lado e por todo o carinho e cuidado.

OBRIGADO!

Dedicatória

À minha avó **Apparecida Marchezano** (in memoriam).

Por seu amor incontestável...

AGRADECIMENTOS

Sábio é aquele que tem a humildade de pedir e aceitar ajuda, pois todo trabalho dividido se torna mais leve e prazeroso, e quando visto sob vários olhos, maiores são as chances de se obter êxito.

Difícil é encontrar palavras para agradecer a todos os tipos de ajuda recebida durante a execução deste trabalho. Uma simples palavra de conforto nos momentos de dificuldade, o aconselhamento técnico ou aquela mão-de-obra nos momentos mais corridos. Nenhuma destas formas de ajuda é mais nem menos importante, todas, ao seu tempo foram fundamentais.

Por isto serei sempre grato a cada um de vocês!

À **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia** da Universidade de São Paulo, pela oportunidade concedida de realizar o curso de Pós-graduação.

À **FAPESP**, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

À **Profa. Dra. Maria Angélica Miglino**, pela amizade, orientação segura deste trabalho e pelo exemplo de seriedade, dedicação e profissionalismo que nortearam grande parte da minha formação acadêmica.

Ao **Prof. Dr. Carlos Eduardo Ambrósio**, pelos comentários e sugestões sempre tão pertinentes ao nosso estudo, mas principalmente pela amizade, paciência, disponibilidade e incentivo à carreira de pesquisador.

À minha grande amiga **Adriana C. Morini**. Deixo aqui meu reconhecimento e profunda admiração por sua alegria, incentivo e dedicação ao trabalho.

Aos amigos em especial **André Francioli, João Carlos Morini Júnior, Cristiane Wenceslau e Marina Brolio**, grandes companheiros com os quais vivenciei grandes momentos. Que possamos sempre realizar nossos sonhos e alcançar nossos objetivos de vida!

Ao **Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira** por toda a ajuda despendida e constante disponibilidade em sanar minhas dúvidas.

À **Profa. Dra. Ana Flávia de Carvalho e Profa. Dra. Celina Almeida Mançanares** pelos ensinamentos desde a iniciação científica.

À **Profa. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos** que no início do desenvolvimento desta pesquisa, ensinou-me a ler minhas primeiras lâminas de placenta.

À **Dra. Daniele dos Santos Martins** pelas sugestões, amizade e acima de tudo pelo carinho.

À três grandes nomes relacionados ao estudo da placenta e placentação, os quais tive a oportunidade de conhecê-los ao longo do curso de Pós-graduação: **Prof. Dr. Rudolf Leiser, Prof. Dr. Antony Carter e a Profa. Dra. Andrea Mess**, agradeço aos ensinamentos e valiosos comentários que me ajudaram a conduzir esta pesquisa.

Aos amigos **Patrícia Reginato, Carlos Alberto Sarmento, Caio Biasi, Alexandre Saladino, Camila Ercolino, Rose Eli, Cláudia Kanashiro, Karla**

Patrícia, Álvaro Galdos, Ana Luiza Reginato, Ricardo Guerra, Rodrigo do Valle e Patrícia Braga e a todos os outros colegas da pós-graduação.

Aos funcionários e técnicos de laboratório: **Ronaldo Agostinho, Maicon Barbosa, Jaqueline Santana, Ednaldo Farias, Sandra Freiburger, Diogo Mader, Carlos de Carvalho, Maíse de Oliveira e Tatiana Curti.**

Ao **Coseas-USP** na pessoa da minha assistente social **Fátima** que soube ser mais do que profissional, soube ser sensível aos meus problemas.

Aos professores do curso de Pós-graduação da FMVZ-USP: **Dr. José Roberto Kfoury Júnior, Dra. Paula de Carvalho Papa e Dr. Pedro Primo Bombonato**, pelos ensinamentos e convivência.

”O excelente mestre não é o que mais sabe, mas o que mais tem consciência do quanto não sabe. Não é o que é viciado em ensinar, mas o mais ávido a aprender. Não é o que declara os seus acertos, mas o que reconhece suas limitações”.

(A. Cury)

"O que deixamos para trás nesta vida, é a lembrança de quem fomos e do que fizemos, uma marca, não mais do que isso. Eu aprendi muito, tornei-me sábio. Mas será que fiz alguma diferença? Não saberia dizer...".

Pas a Pas, Se Va Luènh.

Provérbio Occitano

RESUMO

FAVARON, P. O. **Placentação em roedores da família Cricetidae – Sigmodontinae.** [Placentation in rodents of family Cricetidae – Sigmodontinae]. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

A placenta é encontrada apenas em mamíferos, e é resultado do sucesso da implantação do blastocisto no útero, representando um órgão funcional de trocas materno-fetais, sendo também um importante órgão endócrino. Na família Cricetidae e Subfamília Sigmodontinae englobam os ratos e camundongos da América do Sul. Devido à semelhança entre a morfologia da placenta e o processo de placentação dos roedores com a placenta humana, estes animais representam um interessante modelo para estudos relacionados à placentação. O objetivo deste estudo foi descrever a morfologia da placenta e a placentação em 5 espécies de sigmodontes (*Necromys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oryzomys megacephalus* e *Oligoryzomys* sp.). Nas análises macroscópicas constatou-se que a placenta desse grupo apresenta um formato discóide, sendo classificada como zonária discoidal. Na microscopia observou-se que a placenta é do tipo corioalantóidea, labiríntica, hemocorial, com zonas de espongiotrofoblasto e uma região de decídua materna. A placenta vitelina é vilosa, completamente invertida e persistia até o final da gestação. Somente em *Oryzomys subflavus* foi observada na placenta vitelina uma intensa atividade hemofágica, evidenciada pela técnica de Tricrômio de Masson. A barreira placentária nas espécies *Necromys lasiurus* e *Oryzomys* sp. é do tipo hemotricorial, existindo três camadas trofoblásticas adjuntas ao endotélio do capilar fetal separando os sistemas sanguíneos materno e fetal. As células trofoblásticas gigantes foram observadas em diferentes regiões da placenta. Em todas as espécies as células deciduais foram positivas para reação histoquímica de ácido periódico de Schiff (P.A.S.).

Palavras-chave: Placenta. Barreira placentária. Placenta vitelina. Sigmodontinae.

ABSTRACT

FAVARON, P. O. **Placentation in rodents of family Cricetidae – Sigmodontinae** [Placentação em roedores da família Cricetidae – Sigmodontinae]. 2009. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Placenta is found only in mammals and it is result of the success of blastocyst implantation in the uterus, representing a functional organ to maternal-fetal exchanges and it is also an important endocrine organ. The Family Cricetidae and Subfamily Sigmodontinae include the rats and mice from South America. Due to the similarity of both the placenta morphology and the placentation between rodents and human, these animals represent an interesting model for studies related to the placenta and placentation. The aim of this research was to describe the placenta morphology and placentation in 5 species of sigmodonts (*Necromys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oryzomys megacephalus* *Oryzomys* sp. and *Oligoryzomys* sp.). In the macroscopic analysis the placenta shows a discoid shape, it is classified as discoid type. The microscopy results showed the placenta is chorioallantoic, labyrinth, hemochorial, with areas of spongio zone and a region of maternal decidua. The yolk sac placenta is villous, completely inverted and persisted until the end of pregnancy. Only in *Oryzomys subflavus* was observed in the yolk sac placenta an intense hemophagous activity, evidenced by the Masson's trichrome stain. The placental barrier in *Necromys lasiurus* and *Oryzomys* sp. is of the hemotrichorial type, composed by three trophoblast layers more the fetal capillary endothelium to separate the maternal and fetal blood systems. The trophoblast giant cells were observed in different regions of the placenta. In all species the decidual cells were positive to histochemical reaction using periodic acid-Schiff (PAS).

Key words: Placenta. Placental barrier. Yolk sac placenta. Sigmodontinae

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 BIOLOGIA DAS ESPÉCIES DE ROEDORES DA SUBFAMILIA SIGMODONTINAE EM ESTUDO.....	18
1.2 JUSTIFICATIVA.....	23
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3 REVISÃO DE LITERATURA	28
3.1 ASPECTOS GERAIS DA PLACENTAÇÃO.....	28
3.2 MORFOLOGIA DA PLACENTA, PLACENTA VITELINA E SUBPLACENTA EM ROEDORES.....	34
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 DADOS BIOMÉTRICOS.....	43
4.2 PROCESSAMENTO DOS CORTES HISTOLÓGICOS PARA MICROSCOPIA DE LUZ.....	44
4.3 PROCESSAMENTO DOS CORTES HISTOLÓGICOS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO.....	45
5 RESULTADOS	48
5.1 DADOS BIOMÉTRICOS DOS FETOS E PLACENTAS.....	48
5.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA DA PLACENTA.....	50
5.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA DA PLACENTA.....	57
5.3.1 Microscopia de Luz.....	57
5.3.2 Microscopia eletrônica de Transmissão.....	81
6 DISCUSSÃO	99
7 CONCLUSÕES	114
REFERÊNCIAS	117

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Dentre os mamíferos, a Ordem Rodentia é a mais numerosa, contendo mais de 2000 espécies, o que corresponde à cerca de 40% das espécies da Classe Mammalia.

A maioria das espécies de roedores são de pequenas proporções, fato que aliado ao aspecto geral da arquitetura corpórea, os tornam facilmente reconhecíveis, salvo algumas espécies como a capivara, *Hydrochoerus hydrochoeris*, o maior representante da Ordem, que pode pesar até 45 Kg.

Os roedores possuem uma grande diversidade de habitat, sendo encontrados em todos os continentes com exceção da Antártida. Algumas espécies vivem no dossel das florestas, enquanto que outras quase nunca deixam o solo, algumas possuem habitat aquático contrastando com outras adaptadas ao ambiente desértico.

Uma característica peculiar da Ordem Rodentia é quanto à dentição que é altamente especializada para roer, a qual juntamente com outras características possibilitou o enorme sucesso evolutivo desse grupo. Os roedores possuem a arcada dentária superior e inferior composta por um par de dentes incisivos, seguidos por um espaço denominado de diastema e por um ou mais molares e pré-molares, onde de acordo com o número de molares, podem ser separados em espécies distintas. Os incisivos dos roedores não possuem raízes e crescem continuamente. No ato de roer, ocorre o atrito dos dentes incisivos, o que promove o desgaste da dentina, resultando na contínua manutenção dos dentes sempre afiados.

Na Família Cricetidae e Subfamília Sigmodontinae englobam os ratos e camundongos do Novo Mundo. Dentro da família Cricetidae encontram-se ainda os hamsters e os lemingues (MOSSMAN, 1987).

A Subfamília Sigmodontinae é uma das mais diversificadas dentre o grupo dos mamíferos, sendo a segunda maior Subfamília entre os roedores da Superfamília

Muroidea, possuindo cerca de 380 espécies de ratos e camundongos da América do Sul, distribuídos em 74 gêneros e 8 tribos (REIG, 1984; NOWAK, 1999; POOR, 2005).

Esses roedores são encontrados na América do Sul, América do Norte e América Central. Também já foram encontradas espécies de roedores sigmodontes nas Ilhas Galápagos (NOWAK, 1999).

Os roedores sigmodontes apresentam uma variabilidade muito grande de habitat e características físicas, ocupando os mais variados nichos ecológicos. São encontrados vivendo em desertos, florestas úmidas e secas, savanas, no Cerrado brasileiro, regiões de Alpes, e regiões geladas. Vivem em altitudes que variam desde o nível do mar até 5500 metros acima do nível do mar (NOWAK, 1999).

No Brasil a fauna de roedores ainda é muito pouco conhecida, embora se possa afirmar que seja uma das mais diversas do mundo. As informações à respeito dos hábitos e do habitat da maioria das espécies são escassas, e até a década de 80 resultavam de trabalhos voltados para a área da saúde pública (CADEMARTORI et al., 2004).

Os trabalhos desenvolvidos com roedores na grande maioria das vezes estão associados a levantamentos sistemáticos, levantamentos de ocorrência de espécies em uma determinada área e também trabalhos de biologia básica, e estes quando abordam a reprodução, focam-se mais em características tais como o período reprodutivo, sua duração e comportamento.

Na maioria dos ecossistemas os roedores são importantes porque se reproduzem rapidamente e em períodos relativamente curtos, são fonte de alimento para predadores, dispersores de sementes e vetores de doenças, podendo ainda ser utilizados como cobaias em testes laboratoriais, na alimentação humana e ainda para obtenção de pele.

Björkman et al. (1989) relataram que os roedores por apresentarem aspectos característicos, tais como: tamanho adequado, baixo custo de manutenção e curto período de prenhez, são considerados animais experimentais, embora ainda faltem

informações precisas sobre vários aspectos reprodutivos de algumas espécies, o que acaba por gerar, muitas vezes, interpretações errôneas de experimentos. Neste contexto, é de suma importância a busca de novas espécies animais com potencial para serem utilizados como modelos experimentais, colaborando com o desenvolvimento de pesquisas vitais ao homem e aos próprios animais (HAMLETT; RASWEILER IV, 1993).

O entendimento dos padrões demográficos exibidos pelas populações de roedores refletem na maioria das vezes mudanças sazonais, resultando em flutuações na abundância, alterações na taxa de sobrevivência e na estrutura etária. A compreensão desses padrões depende, dentre outros fatores, da identificação das estratégias reprodutivas apresentadas pelas espécies de pequenos mamíferos como resposta aos diferentes desafios impostos pelo ambiente (CADEMARTORI et al., 2005). Outras vezes, o entendimento destes padrões demográficos e de suas alterações pôde levar ao entendimento de um possível desequilíbrio de uma determinada área.

As pouquíssimas informações existentes acerca da biologia reprodutiva dos roedores da Família Cricetidae em especial da Subfamília Sigmodontinae (Figura 1), determina o objetivo deste trabalho no sentido de buscar mais dados sobre este importante grupo dentro da Ordem Rodentia.

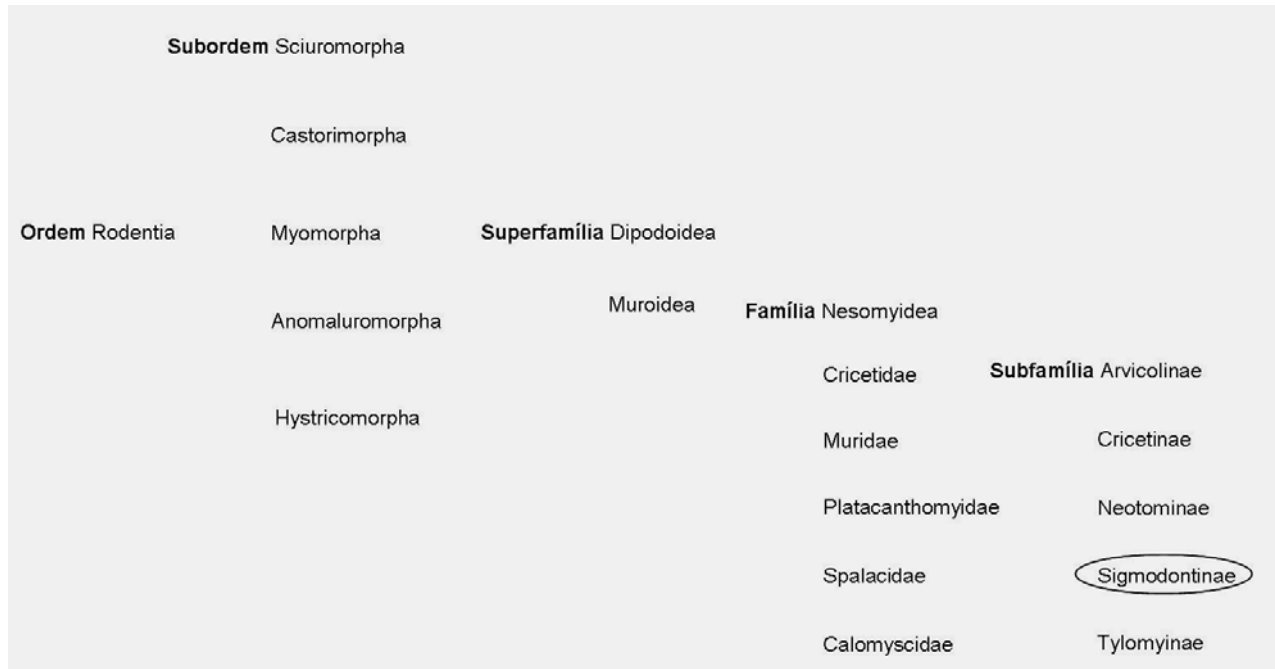


Figura 1- Cladograma evidenciando a relação evolutiva da Subfamília Sigmodontinae dentro da Ordem Rodentia.

1.1 BIOLOGIA DAS ESPÉCIES DE ROEDORES DA SUBFAMÍLIA SIGMODONTINAE EM ESTUDO

Necromys lasiurus: Popularmente chamado de rato-do-capim, pixuna, coxexo e calunga; é uma espécie de tamanho pequeno a médio, onde o comprimento da cabeça e corpo juntos variam de 86 a 124 mm, a cauda mede de 65 a 94 mm, os membros pélvicos medem de 20 a 24 mm e as orelhas de 12 a 15 mm. O peso corporal dos adultos varia de 26 a 64 g. A pelagem do dorso varia de castanho-acinzentada a castanho-amarelada, com limite pouco definido com o ventre, que é branco ou amarelo-acinzentado. Um anel periorcular mais claro, que pode ser muito tênue em alguns

espécimes, está presente em volta de cada olho. Orelhas são pouco pilosas, exceto na sua base, com pêlos da mesma cor do dorso. Cauda mais escura na parte superior, moderadamente pilosa, mas com escamas aparentes, particularmente próximas à base da cauda. Parte superior dos membros em geral escura; garras parcialmente recobertas por pêlos ungueais claros (BONVICINO et al., 2008) (Figura 2A). Habita formações abertas e florestais do Cerrado e ao longo do ecótono Mata Atlântica-Cerrado, além de áreas de vegetação aberta no estado do Pará (Figura 3). Esta espécie desempenha um importante papel no ciclo epidemiológico da peste bubônica, destacando-se na epizootização da peste no nordeste do Brasil. É um roedor silvestre muito prolífero e se desenvolve com relativa facilidade (FUNASA, 2002). A reprodução ocorre durante todo o ano, principalmente entre os meses de abril a junho. O número de filhotes varia de 1 a 11 com média de 4 indivíduos.

Gênero *Oryzomys* spp.: Popularmente conhecido como rato-vermelho ou rato-de-cana, este gênero possui cerca de 20 espécies distribuídas por todo o Brasil (Figura 3). Uma das principais espécies do gênero *Oryzomys subflavus* (rato-vermelho), é considerada na atualidade um complexo de várias espécies. Possui pelagem curta e áspera, coloração variável entre o castanho amarelado, canela e ferruginoso, superfície ventral marfim, cauda escassamente pilosa, branca ou esbranquiçada, inferiormente acompanhando a cor da superfície abdominal, pelo menos na sua base. Membros torácicos pequenos e pélvicos maiores. O comprimento da cabeça e corpo juntos varia de 112 a 160 mm, a cauda mede de 130 a 190 mm, os pés de 29 a 36 mm e as orelhas de 18 a 24 mm. O peso corporal dos adultos varia de 38 a 106 g. habitam áreas de matas e campos e também por entre culturas, onde após alimentar-se sobem em árvores para se refugiarem. Quando ameaçados fogem aos saltos. Apresentam hábitos solitários e saem somente à noite. A reprodução ocorre durante todo o ano, produzindo de 1 a 8 filhotes por gestação (FUNASA, 2002) (Figura 2B).

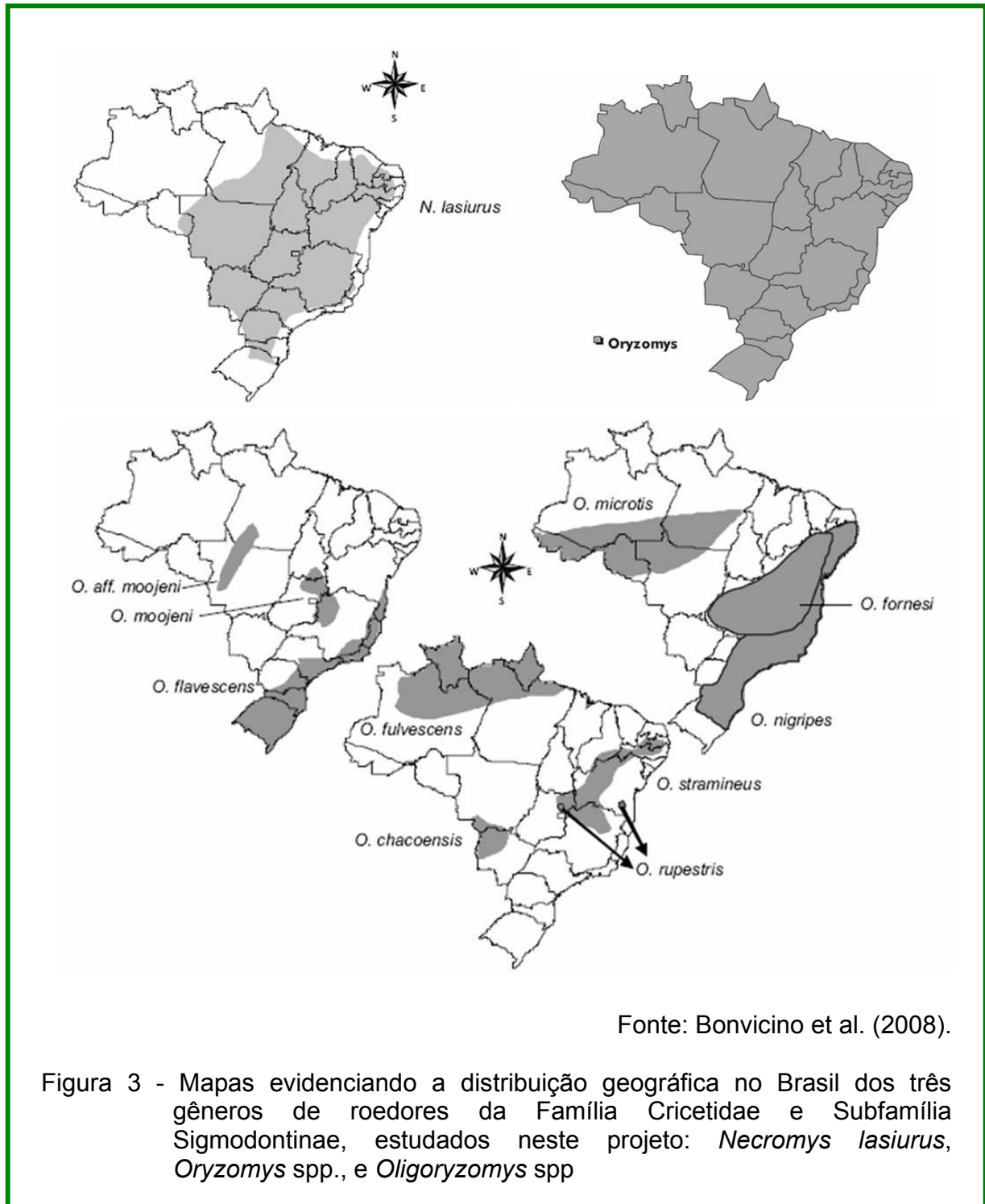
Gênero *Oligoryzomys* spp.: Popularmente chamado de: rato-do-arroz, rato-de-fava ou rato-de-cacau, devido a sua ocorrência próxima a lavouras e plantações. Anteriormente pertencente ao Gênero *Oryzomys*, este novo gênero inclui mais de 10

espécies, todas muito parecidas. A pelagem do dorso varia de castanho-avermelhada a amarelada, tracejada por numerosos pêlos negros. As laterais do corpo são mais claras, com limite definido, ou pouco definido com a coloração do ventre, que é esbranquiçada ou amarelada. Os olhos são bastante proeminentes. O comprimento da cabeça e corpo juntos varia de 83 a 110 mm, a cauda fina e pilosa mede de 112 a 140 mm, os membros pélvicos medem de 22 a 26 mm e as orelhas de 13 a 26 mm. O peso corporal dos adultos varia de 14 a 35 g. Possui quatro pares de mamas localizadas nas regiões: peitoral, pós-axial, abdominal e inguinal. A reprodução ocorre durante todo o ano, produzindo de 2 a 4 filhotes por gestação (FUNASA, 2002). Habita formações florestais e formações abertas da Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga e Pantanal (BONVICINO et al., 2008) (Figura 3). É apontado como um importante reservatório natural de Hantavírus no país, estando relacionada aos casos humanos de Síndrome Pulmonar por Hantavírus ocorridos desde 1993 até o presente momento (FUNASA, 2002) (Figura 2C).



Fonte: Figura 2A, Bonvicino et al. (2008) e figuras 2B e C, Funasa (2002).

Figura 2 - Fotografias ilustrando algumas características morfológicas externas dos 3 gêneros de roedores da Família Cricetidae e Subfamília Sigmodontinae estudados neste projeto. Em A: *Necromys lasiurus*, em B: *Oryzomys* spp. e em C: *Oligoryzomys* spp.



1.2 JUSTIFICATIVA

Considerando a importância ecológica das espécies: *Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oryzomys megacephalus* e *Oligoryzomys* sp., bem como a escassez de literatura que aborde a biologia reprodutiva destas espécies, sobretudo no que diz respeito à placentação, procuramos desenvolver o presente estudo como forma de caracterizar a morfologia placentária, a fim de subsidiar dados que possam ser utilizados como base para um melhor aproveitamento do potencial reprodutivo dos sigmodontes em ambiente natural. De outra parte, os resultados aqui obtidos poderão ser aplicados também para animais criados em cativeiro, tendo em vista a íntima relação da placenta com o sucesso reprodutivo do indivíduo, além de enfatizar a filogenia de evolução da placenta quando comparados com outras espécies.

Devido a melhor fixação do material oriundo das espécies *Necomys lasiurus* e *Oryzomys* sp. pudemos aplicar a técnica de microscopia eletrônica de transmissão nos fragmentos coletados dessas duas espécies

Através, de análises de projetos e propostas anteriores procuramos essas espécies, em especial, devido à disponibilidade dos animais e adequação para esta análise, dispensando, portanto, o sacrifício de vidas. É importante ressaltar que, durante o desenvolvimento do trabalho foram respeitados os parâmetros Internacionais da bioética e bem estar animal, conforme preconiza a Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Com a finalidade de descrever a morfologia da placenta das 5 espécies de roedores da Família Cricetidae – Sigmodontinae determinamos os objetivos deste trabalho em subitens que se seguem:

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste projeto foi estudar a morfologia macro e microscópica da placenta de *Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oryzomys megacephalus*, e *Oligoryzomys* sp., baseando-se em dados macroscópicos, biométricos e técnicas de microscopia de luz e eletrônica de transmissão. Foram utilizadas placentas em diferentes estágios de gestação, a fim de caracterizar e elucidar as principais mudanças morfológicas que ocorrem neste órgão ao longo da placentação nestas espécies. Além disso, os dados obtidos neste projeto de pesquisa foram comparados e discutidos com dados já descritos na literatura para outras espécies de roedores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Descrever macroscopicamente a placenta destas espécies, considerando seu formato e sua vascularização.
- 2- Determinar seus valores de peso, volume e diâmetro placentário.

- 3- Descrever a placenta com base na microscopia de luz.
- 4- Caracterizar a barreira-placentária das espécies *Necromys lasiurus* e *Oryzomys* sp. através da microscopia eletrônica de transmissão.
- 5- Caracterizar através da ultra-estrutura a placenta vitelina das espécies *Necromys lasiurus* e *Oryzomys* sp..
- 6- Descrever as relações materno-fetais que se processam na placenta, tomando como base o arranjo vascular da placenta.
- 7- Comparar os dados específicos obtidos neste trabalho com aqueles já determinados para outras espécies de roedores.

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

Os dados bibliográficos incluem publicações sobre a placenta e placentação em várias espécies de roedores, sendo que os trabalhos utilizados nessa revisão bibliográfica descrevem achados que nos serviram como base para estabelecer uma análise comparativa da placenta das espécies em estudo com outras espécies de roedores, no sentido de criar condições para melhor compreensão e interpretação dos resultados.

3.1 ASPECTOS GERAIS DA PLACENTAÇÃO

Pouco tempo após a fertilização do óvulo inicia-se o processo de clivagem, a passagem desse óvulo já fecundado pela tuba uterina leva vários dias, principalmente ao passar pelo istmo da terminação uterina. Quando este relaxa para permitir passivamente a passagem dos óvulos para dentro do útero, a grande maioria já alcançou o estágio de mórula ou até mesmo de blastocisto precoce de desenvolvimento, sendo denominado neste momento mais especificamente de embrião, época em que este chega ao útero (DYCE et al., 1997).

O blastocisto permanece de um a dois dias em contato com a superfície do endométrio e é envolvido pela secreção das glândulas endometriais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Para sobreviver, o embrião precisa estabelecer logo uma relação fixa com o endométrio, enquanto isso não ocorre, o mesmo fica livre dentro do lúmen uterino, nutrindo-se do leite uterino (DYCE et al., 1997). Esta demora antes da ligação denominada de implantação ou nidação, confere aos embriões a oportunidade de encontrar um local favorável para seu estabelecimento, dando continuidade ao seu desenvolvimento. Porém, para que a implantação ocorra em mamíferos euterianos, torna-se necessário que o trofoblasto chegue a um estado invasivo e que o endométrio uterino tenha chegado a um estado de receptividade (DYCE et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2006).

Para que haja sucesso na reprodução de um vivíparo, é necessário que ocorra e que se estabeleça uma relação muito íntima entre os tecidos maternos e os tecidos embrionários.

Segundo Dyce et al. (1997) embriões de espécies polítopas em geral são encontrados mais ou menos espaçados igualmente ao longo dos cornos uterinos, um arranjo que acaba por permitir o uso mais extenso e equilibrado da superfície endometrial pelas placentas que se desenvolvem. Este espaçamento é conseguido pelas contrações peristálticas que se disseminam em ambas as direções a partir do local de cada embrião e unidirecionalmente a partir das extremidades do corno, cada embrião é repelido pelas contrações oriundas de seus vizinhos e, assim, todos se movem até que encontrem forças de magnitude comparável a partir de cada direção.

Ainda na fase de blastocisto, a zona pelúcida se rompe, permitindo que as células do trofoblasto entrem em contato direto com o endométrio ao qual estas células se aderem. Imediatamente as células do trofoblasto iniciam uma intensa multiplicação, essas células serão responsáveis pela nutrição do embrião à custa do endométrio, do qual o embrião receberá proteção e nutrição até o fim do período gestacional. Nesta fase, a massa celular interna, da qual se originará o corpo do embrião cresce muito pouco (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Para que a implantação se processe, é necessário que o trofoblasto, através de sua membrana plasmática apical, se prenda à membrana plasmática apical do epitélio uterino. A implantação ocorre quando o endométrio se encontra na fase secretora.

A implantação envolve reações das camadas epiteliais sobrepostas do blastocisto e do endométrio e algumas vezes, ocorre uma erosão considerável do tecido materno à medida que a ligação se desenvolve (DYCE et al., 1997).

Todavia, independentemente do grau de intimidade que possa vir a existir entre os tecidos maternos com os embrionários, estes processos sempre envolvem duas fases iniciais, comuns a todas as espécies, que correspondem às fases de aposição e adesão, o que vai resultar na interação entre o trofoblasto e o endométrio de forma direta, promovendo finalmente a fixação do embrião (OLIVEIRA, 2004).

Hafez e Hafez (2004) relatam que em alguns animais, as células do trofoblasto durante e após a nidação no endométrio, secretam o hormônio gonadotrofina coriônica

que prolonga o período de vida útil do corpo lúteo além do ciclo estral. Este período é denominado de reconhecimento materno de prenhez. Estes autores ressaltam que o peso do corpo lúteo está diretamente relacionado com sua capacidade de produzir progesterona adequado ao desenvolvimento embrionário e manutenção do próprio corpo lúteo durante o período crítico da vida embrionária (da ovulação à implantação), quando ocorre o reconhecimento materno-fetal na gestação.

Durante o período de implantação, o trofoblasto se diferencia em duas camadas: o sinciciotrofoblasto, mais externo, com núcleos volumosos e citoplasma contínuo, resultando num sincício e o citotrofoblasto, constituído por uma camada irregular de células ovóides, mononucleadas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; MOORE; PERSAUD, 2004).

Após a implantação do embrião, as células do estroma do endométrio tornam-se alongadas e poligonais, tomando em conjunto um aspecto epitelióide, e o endométrio passa a ser chamado de decídua. Tornam-se distintas a decídua basal ou serotina, situada entre o embrião e o miométrio, a decídua capsular ou também chamada de reflexa, entre o embrião e a luz do útero, e a decídua parietal ou vera, que na verdade é a parte restante da decídua (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

De acordo com Hamlett e Rasweiler IV (1993) o processo de gestação que resulta destes mecanismos, corresponde a uma série evolutiva de relações morfológicas e fisiológicas que visam garantir a sobrevivência do embrião e conseqüentemente o sucesso da reprodução.

O desenvolvimento do embrião se dá como conseqüência do sucesso do processo de implantação, além também de haver a formação gradativa dos anexos fetais, como as membranas extra-embrionárias, o cordão umbilical e a placenta.

De acordo com Hildebrand (1995) os mamíferos eutérios suprem seus embriões no útero por meio de trocas fisiológicas entre as correntes sanguíneas do feto e da mãe através da placenta. Esse órgão faz com que o vitelo seja supérfluo e, assim, os ovos dos eutérios são secundariamente microlécitos.

Dewitt (1959) apud Miglino (1991) ¹descreveu que apesar da sua importância, a placenta e as membranas fetais eram assuntos de quase pura conjectura até a era de Fallopius (1523). O autor referiu ainda que o Velho Testamento contém uma concepção animística Egípcia da placenta como o “continente da alma do Rei”. Segundo ele, as tentativas mais antigas para compreender e explicar, racionalmente, o significado da placenta devem-se aos filósofos gregos do período pré-Socrático. De acordo com o autor, baseado em Diels (1922), Diógenes de Apollonia (480 ac) foi o primeiro a procurar interpretar a placenta como um órgão de nutrição fetal.

A placenta é o órgão que se forma em função do sucesso da implantação do blastocisto no útero, representando o órgão funcional da unidade biológica materno-fetal. É, tanto do ponto de vista morfológico como funcional, um órgão muito complexo, que no curso de seu desenvolvimento apresenta não somente modificações quantitativas e qualitativas de sua estrutura macroscópica geral, mas também diversas modificações microscópicas (OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo Junqueira e Carneiro (2004) a placenta é tida como um órgão transitório encontrado apenas em mamíferos, sendo o intermédio das trocas fisiológicas entre a mãe e o feto. Com isso, a sobrevivência e o crescimento do feto são fortemente dependentes da placenta (WATSON; CROSS, 2005). Esta é constituída por uma parte fetal denominada de cório, e uma parte materna denominada de decídua basal. A placenta é constituída por células genética e imunologicamente diferentes (da mãe e do feto).

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

¹ Miglino, M.A. Pesquisa anatômica sobre artérias e veias do cordão umbilical, sua ramificação e disposição na placenta de bovinos. 1991. 303f. Dissertação (Livre docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

A placenta definitiva nos mamíferos eutérios envolve o cório e o alantóide, sendo esta vascularizada pelos vasos sanguíneos umbilicais. Esta é a placenta corioalantóidea. No início do desenvolvimento embrionário, muitos mamíferos apresentam uma placenta coriovitelina formada pelo cório e pelo saco vitelino. Certo número de mamíferos, incluindo todos os roedores retém o saco vitelino até o final da gestação, porém apresentam parcial ou completa inversão das camadas germinativas. O trofoblasto às vezes, invade a parede do útero deslocando e ou substituindo uma ou mais camadas de tecido (CARTER et al., 2004).

As placentas são classificadas como epiteliocorial, endoteliocorial, ou hemocorial de acordo com a forma de sobreposição e relacionamento do trofoblasto no epitélio uterino, no endotélio dos vasos maternos, ou diretamente com o sangue materno (CARTER; ENDERS, 2004; CARTER et al., 2004).

A placenta de roedores é classificada como tipo hemocorial, pois nestes animais a interação materno-fetal resulta da invasão do leito vascular uterino pelo trofoblasto, que passa a ser banhado pelo sangue materno extravasado (OLIVEIRA, 2004).

A placenta é um órgão com uma vascularização muito ativa. Admite-se que cerca de 20.000 litros de sangue atravessem este órgão num período de 24 horas. Seus vasos tendem a evoluir à medida que ela se desenvolve, no entanto, o sangue materno e o fetal não se misturam (ALMEIDA et al., 2000).

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

Jainudeen e Hafez (1995) relatam que a placenta desempenha muitas funções no organismo, substituindo o trato gastrintestinal, os pulmões, os rins, o fígado e as glândulas endócrinas do feto durante o período gestacional, na vida pós-natal essas funções são assumidas por diferentes órgãos (SCHNEIDER, 1996). O sangue fetal e o sangue materno, nunca entram em contato direto (TAKATA et al., 1997), embora as

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

A placenta é um órgão que apresenta uma morfologia bastante diversificada, apresentando grande diversidade de tamanho, arquitetura e componentes da barreira materno-fetal, sujeito a um padrão de variabilidade nos diferentes mecanismos, que são ativados no seu desenvolvimento, garantindo a formação de um órgão altamente eficiente para a troca respiratória, troca de nutrientes e também de metabólicos. Variabilidade esta que se refere ao tipo e número de membranas envolvidas, ao formato externo do órgão, ao modelo geométrico da interdigitação das superfícies materna e fetal, que acaba por constituir a barreira placentária (separação anatômica entre a circulação materna e fetal, sendo-a de origem completamente fetal) (FITZGERALD; FITZGERALD, 1997), e ao modelo geométrico dos vasos sanguíneos maternos e fetais (OLIVEIRA, 2004).

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

3.2 MORFOLOGIA DA PLACENTA, PLACENTA VITELINA E SUBPLACENTA EM ROEDORES

Trabalhos abordando caracteres morfológicos e a morfogênese da placenta de roedores no Brasil, ainda são escassos, especialmente quando se trata de espécies silvestres. Contudo, descrevemos alguns destes trabalhos, sobretudo aqueles que possuem maior importância para o estabelecimento de análises comparativas da estrutura placentária e dos demais anexos fetais entre roedores.

Normalmente as espécies da classe Rodentia possuem uma placenta discoidal, labiríntica e hemocorial, sendo encontrado na massa mesenquimal uma série de estruturas como a subplacenta, a placenta vitelina, membrana de Reichert's e também células gigantes.

A placentação em roedores é caracterizada pela formação de duas membranas placentárias diferentes. Além da placenta corioalantóidea que promove uma relação hemocorial entre o sangue materno e o fetal, existe uma placenta vitelina visceral (LEISER; KAUFMANN, 1994; TAKATA et al., 1997; OLIVEIRA, 2004).

A placenta vitelina é tida como uma placenta funcional em roedores, sendo de grande importância antes da formação da placenta corioalantóidea, pois é a única estrutura presente no feto com responsabilidade nos processos de trocas entre mãe e feto (OLIVEIRA, 2004). Além disso, está associada a transferência de imunidade passiva da mãe para o feto (BRAMBELL, 1958).

King e Enders (1970) estudaram através da microscopia eletrônica de transmissão a morfologia da placenta vitelina do “guinea pig” dos 26 dias de gestação até a termo. Nesta espécie, a placenta vitelina é constituída de células endodérmicas colunares e regiões de vilos. Foi observado que na região apical das células endodérmicas o citoplasma apresenta numerosas invaginações na membrana, vesículas de endocitose, túbulos densos e grandes vacúolos que pareciam formar um sistema associado a absorção.

As células da placenta vitelina em fases iniciais de gestação são pequenas, ovóides e dispostas tangencialmente ao disco da placenta. Quando tornam-se maduras, essas células constituem um epitélio colunar com citoplasma celular volumoso, formando a porção parietal da placenta vitelina, enquanto que as células endodérmicas formam a placenta vitelina visceral (TAM; BURGESS, 1977).

O modo de evitar um contato prolongado do trofoblasto com o tecido conjuntivo materno é a migração rápida do trofoblasto ao endométrio e invasão de vasos maternos para que se estabeleça uma condição hemocorial. Em ratos é observada a formação de uma placenta hemotricorial labiríntica (ENDERS; WELSH, 1993).

Hoffman e Wooding (1993) comentam sobre a origem celular, estrutura e função das células trofoblásticas gigantes e binucleadas, os autores consideram que em roedores as células gigantes são bem desenvolvidas, mononucleadas e abundantes em ratos, hamsters e esquilos, sendo resultantes da transformação das células blastocísticas trofodermais. Outra estrutura que os autores fazem menção é quanto à membrana de Reichert's, sendo dito que essa estrutura apóia a camada parietal do endoderma do saco vitelino, coberto por processos de trofoblasto aplainado com fenestrações, essas por sua vez, estariam posicionadas de modo a influenciar o transporte de substâncias do sangue materno para o saco vitelino visceral.

Ansell, Barlow e McLaren (1974) dizem que o desenvolvimento da decídua em roedores está associado com a produção de células multinucleadas e gigantes. Em ratos, são identificadas células binucleadas, que aparecem ao longo da zona secundária ou antimesometrial da decídua pelo oitavo dia de gestação (KREHBIEL, 1937). Em camundongos, esta região caracteriza-se por apresentar células bi, tri ou tetranucleadas (SNELL; STEVENS, 1966 *apud* ANSELL; BARLOW; MCLAREN, 1974²).

Deane et al. (1962) investigaram as prováveis funções das células binucleadas em placentas de ratos e camundongos na produção de hormônios esteróides, capacidade invasiva e fagocítica, visto que essas células são vistas na periferia da placenta fetal, em associação íntima com a decídua e com seios de sangue materno.

² SNELL; STEVENS 1966, *apud* ANSELL, J. D.; BARLOW, P. W.; MCLAREN, A. Binucleate and polyploidy cell in the decidua of the mouse. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v. 31, n. 1, p. 223 – 227. 1974.

Com relação as células trofoblásticas gigantes, essas segundo Hemberger (2007), morfologicamente exibem características extraordinárias adaptadas para o sucesso da prenhes. O desenvolvimento em roedores depende da diferenciação e do funcionamento das células trofoblásticas gigantes. Esse é o primeiro tipo celular definitivo a se diferenciar após a fertilização (BEVILACQUA; ABRAHAMSOHN, 1988), originando-se da camada mais externa do trofoectoderma do blastocisto durante o período de peri-implantação. Após a implantação, as células gigantes derivadas da parte mural do trofoectoderma colaboram para formar a placenta vitelina parietal.

A placenta dos roedores consiste de dois compartimentos fetais (zona de labirinto e zona juncional) e um compartimento decidual materno. Dos dois compartimentos fetais, a zona juncional é a menos conhecida até o momento. É um compartimento celular formado por dois subtipos de trofoblasto: o espongiotrofoblasto e as células trofoblásticas de deposição de glicogênio. Ambos os tipos celulares, são criticamente importantes para a sobrevivência do feto (COAN et al., 2006).

Enders (1965) realizou um estudo comparativo da barreira-placentária através da microscopia eletrônica de transmissão em placentas hemocoriais de nove espécies diferentes. Os resultados mostraram que o rato (*Rattus norvegicus*) e camundongo (*Mus musculus*) de laboratório, o hamster (*Cricetus auratus*), e o deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) possuem três camadas de trofoblasto separando os espaços de sangue materno e os vasos fetais, sendo, portanto, classificadas como hemotricorial. No coelho (*Oryctolagus cuniculus*) foram identificadas duas camadas, hemodicorial; e o “guinea pig” (*Cavia porcella*) e o chipmunk (*Eutamias quadrivittatus*) uma única camada, hemomonocorial, assim como a humana e do tatu (*Dasypus novemcinctus*).

Fischer (1971) descreveu a implantação no castor americano (*Castor canadensis*) relatando que a implantação nestes animais ocorria de forma superficial e antimesometrial. O autor caracterizou a placenta dessa espécie como “reniforme”, desenvolvida ao redor da papila endometrial, com interdigitação do tipo labiríntica e arquitetura lobada. A barreira placentária na espécie foi identificada como hemodicorial com a camada trofoblástica interna de natureza sincicial e a externa do tipo celular.

Tam e Burgess (1977) estudaram a placenta do “guinea pig” (*Cavia porcella*), os autores mencionam que nos primeiros dias da gestação a placenta dessa espécie é

constituída por células trofoblásticas representadas por citotrofoblasto de núcleos relativamente pequenos, associado a um citoplasma escasso e mesmo basófilo. Essas células são encontradas na região esponjosa, na região de interlóbulo e também na região mesometrial. É dito ainda que inicialmente o desenvolvimento do sincício da zona labiríntica ocorre de maneira desorganizada, somente aos quarenta dias o sinciotrofoblasto encontra-se na sua típica forma de zona labiríntica, organizado de forma radiada, bem vascularizada e com anastomoses.

King e Hastings (1977) compararam através da microscopia eletrônica de transmissão a barreira-placentária de seis gêneros de roedores da Subordem Miomorfa e Família Cricetidae (*Lemmus*, *Dicrostonyx*, *Clethrionomys*, *Microtus* e *Peromyscus*). Foi observado pelos autores que a barreira-placentária dessas espécies examinadas era do tipo hemotricorial. As células endoteliais nesse grupo continham regiões fenestradas.

Uma outra espécie de Cricetidae o *Calomys callosus* foi estudada por Limongi e Ferro (2003). Nesse trabalho os autores descreveram a placenta como sendo composta pelas regiões de espongiotrofoblasto, células trofoblásticas gigantes e labirinto. A barreira-placentária era constituída por três camadas de células trofoblásticas (camadas I, II e III), sendo esta placenta considerada hemotricorial.

Dantzer, Leiser e Kaufmann (1988) classificaram a placenta da chinchila e do “guinea pig” (KAUFMANN, 1981) como discoidais, labirínticas e hemomonocorial, sendo compostas por lóbulos supridos por capilares fetais e lacunas maternas. No estágio inicial do desenvolvimento placentário destas espécies, ocorre a formação do labirinto que corresponde aos lóbulos placentários.

Estudos com essa espécie (*Cavia porcella*) trazem resultados de extrema contribuição para o entendimento da placentação no homem, devido às semelhanças existentes entre os dois modelos de placentas.

Mess (2007a) estudou, através de técnicas de imunohistoquímica, o modelo de placentação no “guinea pig”. Os resultados indicam que o crescimento placentário é resultado da atividade de proliferação das células trofoblásticas derivadas da margem da placenta, arranjadas na lâmina basal e diretamente abaixo de camadas de mesênquima fetal. Essa forma de distribuição como referido pelo autor, é muito

semelhante ao modelo humano, sendo portanto, o “guinea pig” uma importante espécie para a elucidação dos processos de crescimento placentário humano.

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

Além disso, a placenta da *Agouti paca* (paca) foi estudada nos estágios iniciais do desenvolvimento por Franciulli (2007). É mencionado pelo autor que a placenta vitelina visceral, a primeira membrana placentária, apresenta-se como uma membrana fina e transparente com vasos sanguíneos vitelinos evidentes distribuídos por toda a superfície. A placenta principal apresentava uma coloração avermelhada com em formato de cálice, a qual voltava-se para a face mesometrial do útero. Estruturalmente era composta por lóbulos e interlóbulos. A placenta vitelina parietal projetava-se sobre a superfície da placenta principal.

Miglino et al. (1996) estudaram as membranas fetais e o útero gravídico de seis exemplares de capivara (*Hydrochoerus hydrochoeris*) nessa espécie de roedor o útero foi classificado como bicornuado. Na área de implantação podiam ser vistos inúmeros vasos dilatados e tortuosos, diferentemente dos que se dirigiam para as áreas circunvizinhas, que eram retos e finos.

Kanashiro (2006) estudou a morfologia da placenta da mesma espécie (*Hydrochoerus hydrochoeris*) no terço inicial da gestação. O autor menciona que a placenta da capivara é classificada como discoidal, labiríntica, hemocorial com subplacenta e o terço inicial de prenhez apresenta as regiões de decídua (capsular e basal), placenta vitelina (visceral e parietal), placenta principal, subplacenta e âmnio.

Em estudo de placentas de termo de degu (*Octodon degus*) foi observado por Bosco, Diaz e Borox (1997) que aos sessenta dias de prenhez, a subplacenta

apresenta-se ao microscópio de luz volumosa e imbricada, localizada entre a placenta e a decídua basal, sendo constituída por capilares e mesênquima fetal. Porém, em placentas com noventa dias de gestação não foi observada a subplacenta.

A placenta de degu (*Octodon degus*) foi estudada também por Kertschanska, Schröder e Kaufmann (1997), onde os autores classificaram-na como sendo corioalantóidea, labiríntica e hemomonocorial.

Mais recentemente Mess (2007b) estudou o desenvolvimento da placenta corioalantóidea no degu, através da microscopia de luz e transmissão, também fazendo uso de marcadores de proliferação, trofoblasto e estroma endometrial. Foi observado pelo autor que a espécie carece de uma complexa lobulação da placenta corioalantóidea. Áreas de extensa proliferação estão restritas a células trofoblásticas do trofoespongio.

Neves (2000) estudou a biologia da reprodução de cutias, caracterizando o útero gestante e a morfologia da placenta e do cordão umbilical de nove cutias criadas em cativeiro. Neste estudo o autor descreve os vasos que suprem o útero gravídico, os aspectos macroscópicos da placenta e os vasos e ductos que compunham o cordão umbilical. A placenta da cutia, segundo suas observações, apresentava lóbulos placentários reunidos por um espesso tecido colágeno, cada um apresentando uma região de “centro lobular”.

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

Bonatelli (2001) que analisou morfologicamente placentas em estágios intermediário e final de gestação em nove pacas (*Agouti paca*) com auxílio de microscópio de luz e microscópio eletrônico de transmissão, afirma que a paca é um

roedor dotado de uma placenta do tipo vitelina e outra do tipo corioalantóidea. A placenta vitelina possui uma área visceral, composta por dobras e vilos com numerosas projeções digitiformes, e uma área vitelina parietal revestida por células endodérmicas e por células trofoblásticas diferenciadas, denominadas espongiotrofoblastos, encontradas apenas em placentas em estágio intermediário de gestação. A placenta corioalantóidea é labiríntica e composta de lóbulos com três regiões distintas; o centro do lóbulo, contendo artérias e veias circundadas por células trofoblásticas; o labirinto, caracterizado como a região de maior eficiência nas trocas materno-fetais; e o interlóbulo, como região comum a vários lóbulos placentários compostos por cordões trofoblásticos de natureza sincicial. O fluxo sangüíneo, com base no comportamento dos vasos placentários, foi classificado como do tipo contracorrente e a barreira placentária como hemomonocorial.

Ferreira et al. (2002) desenvolveram um trabalho onde descrevem macroscopicamente a placenta e as membranas fetais do ratão do banhado (*Myocastor coypos*), considerando o fato de que esta espécie encontra-se em processo de extinção, bem como visando criar perspectivas de melhorias na reprodução destes animais. No animal estudado os autores identificaram, com as membranas fetais ainda intactas, a presença de um resquício do pedículo vitelino, causando uma pequena retração do alantocório ao lado direito com relação ao feto. O alantocório apresentou-se com intensa vascularização e a bolsa amniótica aparentemente avascular era translúcida. O cordão umbilical apresentou-se com formato de “Y”, com um ramo vascular ligando o feto à placenta e um outro ligando o feto à membrana alantoídea, apresentando no seu trajeto uma estrutura discoidal de onde se originam os demais vasos do alantocório. A placenta foi classificada como discoidal e lobada.

Rodrigues (2002) e Rodrigues et al. (2003) estudaram a morfologia e a microvascularização de placentas de cutias (*Dasyprocta aguti*) em diferentes fases de gestação. Macroscopicamente, os autores descreveram a placenta como esférica e estruturalmente lobulada, conectada ao útero através de uma mesoplacenta e, microscopicamente, sendo constituída por interlóbulos delimitando lóbulos placentários. O modelo de fluxo sangüíneo era do tipo contracorrente, onde o sangue fetal flui centriptamente do interlóbulo para o centro do lóbulo, enquanto o sangue materno

desloca-se centrifugamente. Considerando a natureza hemocorial, labiríntica, o fluxo sanguíneo placentário e a proporção entre o peso da placenta e o peso do feto, os mesmos afirmam ter a placenta alto grau de eficiência.

MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

Para esta pesquisa foram utilizadas 4 placentas de cada espécie: *Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oryzomys megacephalus* e *Oligoryzomys* sp., nos períodos: inicial, meio e final de gestação. Com isso objetivou-se observar o máximo de mudanças morfológicas placentárias que pudessem vir a ocorrer durante a gestação dessas espécies.

As placentas foram coletadas em animais procedentes da Coleção do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, onde os mesmos já se encontravam ortotaniados (SOUSA, 2003), do Cemas (Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Escola Superior de Agricultura de Mossoró-RN) e de uma área afetada para a construção de uma Pequena Central Hidrelétrica, no Rio Sapucaí entre os municípios de São Joaquim da Barra e Guará, SP (sendo que os animais foram depositados no Museu de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo).

4.1 DADOS BIOMÉTRICOS

Após a coleta, as placentas foram mensuradas com auxílio de um paquímetro de aço inoxidável, determinando-se o diâmetro das mesmas, e com uso de uma balança digital (0,001 gramas – modelo MARTE) foi determinado o peso. Além disso, foi calculado o volume orgânico da placenta segundo o Princípio de Arquimedes (MANDARIM-DE-LACERDA, 1994), onde a estrutura a ter seu volume determinado é colocada em um recipiente com água (proveta, por exemplo) e segundo o deslocamento do nível do líquido determina-se o volume.

Determinou-se também a forma e características externas da placenta nessas espécies de roedores e a presença de outros anexos placentários.

A nomenclatura utilizada foi referida conforme estabelecido pelo International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature e International Committee on Veterinary Histological Nomenclature, 1994.

4.2 PROCESSAMENTO DOS CORTES HISTOLÓGICOS PARA MICROSCOPIA DE LUZ

Para o estudo histológico foram utilizados fragmentos das placentas coletadas em diferentes fases de gestação já fixadas em solução de formaldeído a 10% tamponado, ou paraformaldeído 4%. Após a fixação o material foi lavado em Tampão fosfato ou Água destilada para retirar o fixador, seguido de desidratação em uma série de etanóis em concentrações crescentes (de 70 a 100%), diafanizado em xilol e em seguida os cortes foram embebidos em similar de parafina (Histosec®)³ (TOLOSA et al., 2003).

Os blocos foram submetidos a microtomia em micrótomos automáticos (Leica, RM2165) obtendo-se cortes de 5 µm, os quais foram aderidos em lâminas histológicas e deixados em estufa a 60°C.

Após serem desparafinizados os cortes, foram corados seguindo as técnicas de Hematoxilina e Eosina – HE, azul de Toluidina (LILLIE; FULMER, 1976), Tricrômio de Masson, Picrossirius (JUNQUEIRA, 1979), e reação histoquímica de P.A.S. (ácido periódico de Schiff), com fundo de hematoxilina.

Em seguida o material foi analisado e as características morfológicas encontradas foram fotodocumentadas.

³ HISTOSEC-MERCK, lote K91225309

4.3 PROCESSAMENTO DOS CORTES HISTOLÓGICOS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Para a caracterização ultra-estrutural da placenta das espécies *Necomys lasiurus* e *Oryzomys* sp., foram obtidos fragmentos com cerca de 0,5 cm² de diferentes regiões da placenta, como a decídua, o labirinto e a placenta vitelina.

Para identificar se a placenta destas espécies corresponde ao modelo hemocorial (mono, di ou tri) fragmentos foram coletados de regiões distintas do labirinto placentário.

Inicialmente os fragmentos foram imersos em solução de glutaraldeído a 2,5%, tamponado com fosfato de sódio a 0,1 M e pH 7,4.

Após completar a fixação, o material foi lavado em tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,4 por três vezes, durante 10 minutos cada. Logo após, procedeu-se a pós-fixação em tetróxido de ósmio (tamponado em fosfato de sódio 0,1 M e pH 7,4) a 2% por duas horas. Concluída a pós-fixação, os fragmentos foram lavados em solução tampão por três vezes durante 10 minutos cada. Após a lavagem, estes fragmentos foram imersos em acetato de uranila aquosa saturada por 1 hora ao abrigo da luz, sendo posteriormente lavados em tampão e finalmente foram submetidos à desidratação em álcool etílico em concentrações crescentes: 50%, 70%, 80%, 90% e 95% (10 minutos em cada álcool) e em álcool etílico absoluto, realizando-se 4 trocas a intervalos de 20 minutos.

Após a passagem pela bateria de álcool etílico, os fragmentos foram lavados em óxido de propileno, durante 10 minutos, garantindo assim uma total desidratação, onde em seguida iniciou-se a infiltração em araldite SO₂ - Polysciencs. Os fragmentos foram imersos em uma mistura de óxido de propileno e araldite na proporção de 1:2 durante uma hora, 1:1 durante 12 horas, araldite pura durante 4 horas e finalmente em araldite pura mais ativador, para assim então, confeccionar os blocos, sendo levados à estufa a 60 °C por três dias, até completa polimerização.

Obtidos os blocos, foram confeccionados cortes semifinos com 0,4 μm de espessura em ultramicrótomo automático (Ultracut R, Leica Microsystems < Germany), corando-se a quente em solução aquosa de azul de Toluidina a 1% e analisando-os em microscópio de luz, a fim de identificar as áreas de interesse para então obtenção dos cortes ultrafinos. Para isto, foram feitos cortes com 0,07 μm de espessura que foram coletados em telas de cobre e contrastados com acetato de uranila saturado a 2%, durante 7 a 10 minutos, e logo após em citrato de chumbo a 0,5%, durante o mesmo período utilizado para o acetato de uranila. No final, o material foi analisado em microscópio eletrônico de transmissão (Morgagni 268D, FEI Company, The Netherlands; Mega View III câmera, Soft Imaging, Germany) e as regiões do mesênquima placentário melhor caracterizadas foram eletromicrografadas

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados que se seguem foram dispostos segundo a ordem dos objetivos previamente definidos para uma melhor elucidação e compreensão dos mesmos. Visando um fim comparativo entre os resultados obtidos para as 5 espécies, achamos por bem, descrever a estrutura mencionando como esta se apresenta nas 5 espécies e não descrever a morfologia da placenta de cada espécie isoladamente.

É importante ressaltar que alguns dados coletados dos fetos como peso e comprimento foram determinados, e aqui são apresentados como forma de avaliar as condições de desenvolvimento do mesmo.

5.1 DADOS BIOMÉTRICOS DOS FETOS E PLACENTAS

Os dados biométricos e de peso dos fetos e das placentas foram determinados como forma de avaliar as condições e fases de seu respectivo desenvolvimento. O comprimento dos fetos variou de 1,3 a 3,1 cm para *Necromys lasiurus*; de 2,0 a 2,8 cm para *Oryzomys subflavus*; de 1,0 a 2,2 cm para *Oryzomys megacephalus* e de 0,5 a 2,4 cm para *Oligoryzomys* sp. Maiores descrições quanto à biometria, podem ser observadas na tabela 1. É importante salientar que os valores apresentados na tabela 1 são valores absolutos, pois como o material utilizado é resultado de diferentes fases gestacionais (início, meio e a termo) não é estatisticamente relevante calcular valores de média e desvio, pois o resultado não apresentaria confiabilidade do ponto de vista comparativo e estatístico.

Como para a espécie *Oryzomys* sp. apenas foi coletada a placenta, não foi possível determinar os valores de comprimento e de peso para o feto, no entanto os dados referentes a placenta, objeto de estudo deste projeto, seguem apresentados na tabela 1.

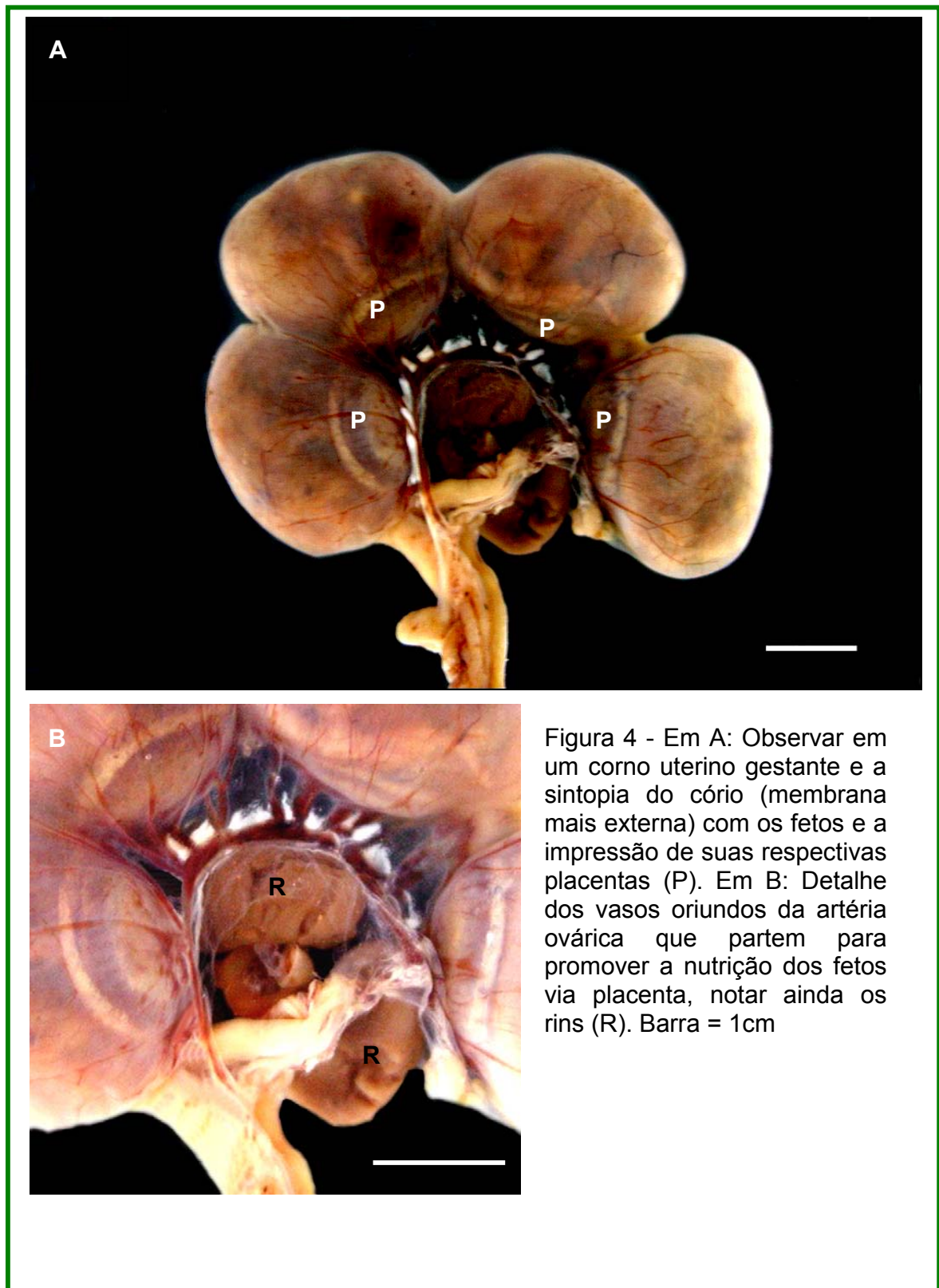
Tabela 1- Relação de dados colhidos e valores absolutos do comprimento do feto (CF), peso do feto (PF), peso da placenta (PP), volume da placenta (VP), comprimento da placenta (CP) e diâmetro da placenta (DP), referentes as placentas e fetos de roedores da família Cricetidae – Sigmodontinae, coletados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, CEMAS, Mossoró, RN e Rio Sapucaí em São Joaquim da Barra, SP, coletados de janeiro de 2007 a janeiro de 2009 - São Paulo - 2009

Espécie/ Sigla	Origem do Material	Fixador	N°	<i>Fetos</i>			<i>Placenta</i>		
				CF (cm)	PF (g)	PP (g)	VP	CP (cm)	DP (cm)
<i>Necromys lasiurus</i>									
APC 1246 (1/2)	Serra Geraldo Tocantins, TO	Álcool	1	3,1	3,354	0,696	0,9	1,4	0,7
APC 1140	Santa Bárbara, SP	Formol	1	1,3	0,377	0,142	0,4	1,1	0,9
APC 1246 (2/2)	Mossoró, RN	Gluta					0,5	1,3	1,1
APC 1246 (2)	Mossoró, RN	Gluta					0,5	1,2	0,6
<i>Oryzomys subflavus</i>									
APC 1157	Santa Bárbara, SP	Formol	1	2,8	5,223	0,627	0,9	1,5	1,2
APC 1177	Santa Bárbara, SP	Formol	1	2,0	0,834	0,897	1,0	1,2	0,9
APC 1177 (1)	Santa Bárbara, SP	Formol	1	2,4	0,329	0,334	0,5	1,1	0,8
APC 1177 (2)	Santa Bárbara, SP	Formol	1	2,2	0,312	0,299	0,5	1,0	0,7
<i>Oryzomys sp.</i>									
Pote 1	São Joaquim da Barra, SP	Gluta	-	-	-	0,149	0,2	0,6	0,5
Pote 2	São Joaquim da Barra, SP	Gluta	-	-	-	0,277	0,3	0,8	0,7
P. feto+placenta	Itirapira, SP	Álcool	-	-	-	-	-	1,0	0,9
P. placenta	Itirapira, SP	Álcool	-	-	-	0,234	0,3	0,7	0,5
<i>Oryzomys megacephalus</i>									
APC 1022-1	Serra das Araras, MT	Álcool	-	-	-	0,222	0,1	1,0	0,5
APC 1022-3	Serra das Araras, MT	Álcool	-	-	-	0,095	0,1	1,0	0,6
MRT 08415	Goiânia, GO	Álcool	1	1	0,107	0,209	0,4	0,9	0,6
MRT 08408	Goiânia, GO	Álcool	1	2,2	1,082	0,538	0,9	1,1	1,0
<i>Oligoryzomys sp.</i>									
MZUSP 32729-1	Cotia e Ibiúna, SP	Álcool	2	2,4	1,186	0,079	0,2	1,2	0,8
MZUSP 32729-4	Cotia e Ibiúna, SP	Álcool	1	2,3	1,188	0,174	0,3	1,1	0,8
MZ 31167	Piedade, SP	Álcool	3	1,0	0,118	0,051	0,1	0,6	0,5
MZUSP 32735	Piedade, SP	Álcool	1	0,5	0,025	0,075	0,1	0,6	0,5

5.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA DA PLACENTA

Foram analisadas macroscopicamente 04 placentas de cada espécie abordada neste estudo (*Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oligoryzomys* sp. e *Oryzomys megacephalus*) em diferentes fases gestacionais.

O útero mostrou-se do tipo bicórneo, onde foi possível observar os ramos uterinos da artéria ovárica (Figura 4) que seguiam em direção a placenta e ao feto.



Após coleta do material, pudemos notar externamente as membranas fetais que revestiam o feto e a placenta (Figura 5).

As membranas fetais mostraram-se com uma coloração ocre, apresentando ainda um padrão de transparência que permitia que o feto fosse visualizado através das mesmas.

A membrana coriovitelina é a membrana mais externa e de maior espessura sendo que a mesma reveste não somente o feto como também a membrana adjacente, o âmnio. Ao olho nu, esta membrana apresenta uma transparência menos acentuada do que o âmnio (Figura 5).

A membrana amniótica apresentou-se intensamente delgada e fina. Esta apresentava uma íntima relação com o feto recobrando-o completamente (Figura 5).

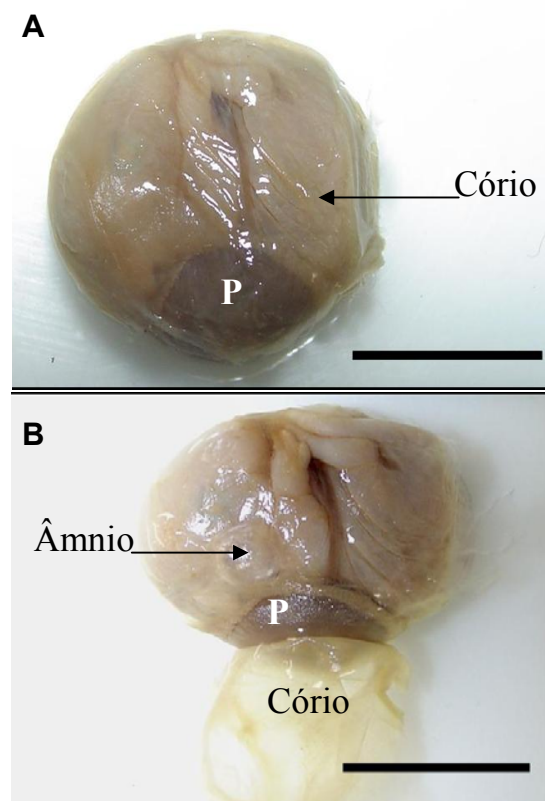


Figura 5 - Fotografia das membranas fetais, do feto e da placenta de *Oligoryzomys* sp. Em A: notar o cório ainda intacto revestindo completamente o feto pode-se observar ainda, a relação existente entre o feto e a placenta. Em B: após remoção do cório, notar o feto envolto pelo âmnio, e a disposição da placenta (P) junto ao feto e as membranas fetais. Barra = 1cm

Em todas as fases gestacionais analisadas (início, meio e a termo) as placentas dos roedores sigmodontes apresentaram o mesmo padrão em seu formato macroscópico. Essas possuíam uma forma discóide, onde a união de cório frondoso e epitélio uterino apresentam-se restritas a uma forma de disco, sendo esse tipo de placenta, portanto, classificada como zonária discoidal (Figuras 6 e 7).

Notou-se ainda que a placenta destas espécies de roedores da Subfamília Sigmodontinae, apresenta-se um pouco mais côncava na face voltada para o feto, enquanto que a face da placenta voltada para o lado materno tendia a tornar-se convexa, a qual se fixava na região mesometrial da parede uterina.

Ao longo de sua extensão, foi observada uma rede de vasos que circundava a placenta dirigindo-se a sua porção mais central (Figura 6). Estes vasos que ora se imbricavam pelo interior da placenta, ora a circundavam, diminuía paulatinamente seu diâmetro até se tornarem bem delgados e muitas vezes ainda, emitiam ramificações.

Macroscopicamente, na face da placenta voltada para o feto é notória uma diferença de coloração no disco placentário, como se houvessem duas regiões distintas: uma mais periférica (de coloração mais clara) e outra mais central (de coloração escura), na qual se conectava o cordão umbilical. Tal observação não se mostrou tão evidente na face materna da placenta (Figura 6).

O cordão umbilical conectava o feto à placenta, este se constituía por vasos sanguíneos delgados e delicados. Estes vasos nas espécies analisadas não apresentavam um formato espiralado.

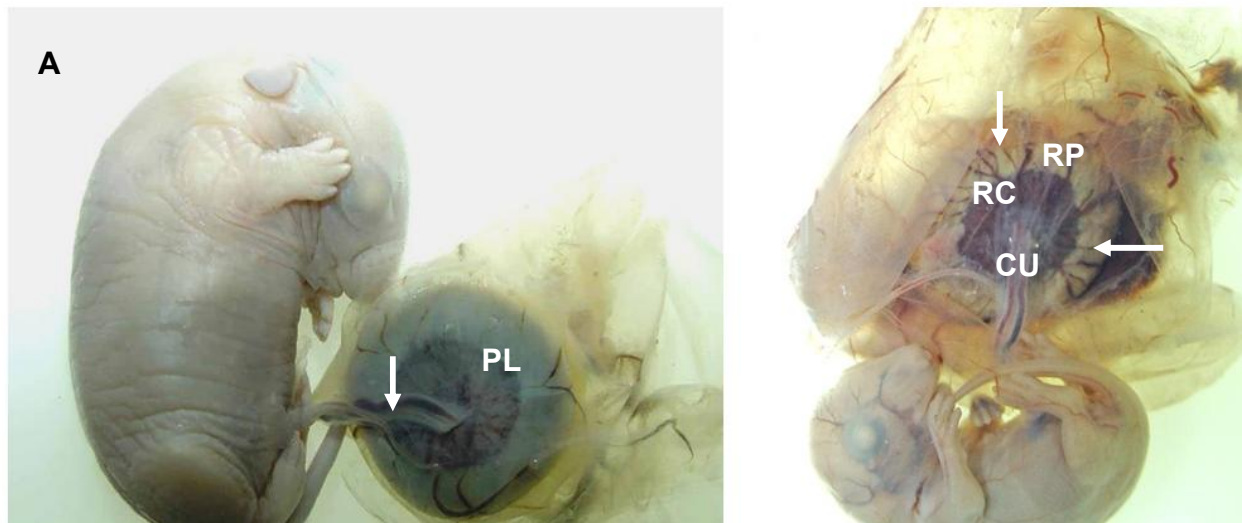


Figura 6 - Fotografia do feto e da placenta de *Oryzomys subflavus*. Em A: Notar o formato de disco comum para as cinco espécies de sigmodontes analisados neste estudo. Observar ainda a região de conexão entre feto e placenta (PL) através do cordão umbilical indicado pela seta. Em B: Evidencia-se a diferença na coloração do disco placentário na face voltado para o feto em duas regiões distintas: uma mais periférica (RP) e outra mais central (RC), à qual se conecta ao cordão umbilical (CU). Vasos são observados circundando o disco placentário (setas). Barras = 1 cm

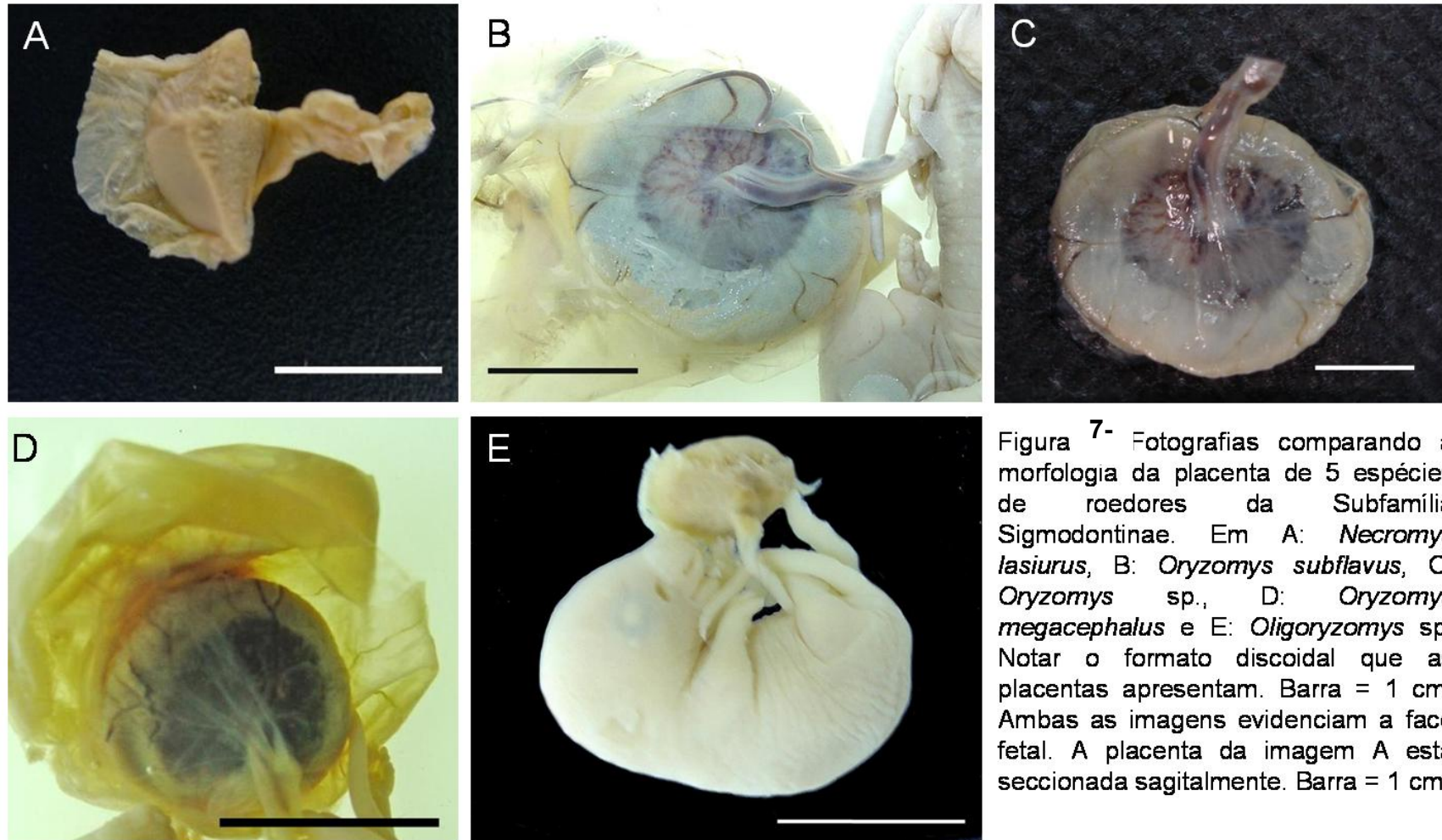


Figura 7- Fotografias comparando a morfologia da placenta de 5 espécies de roedores da Subfamília Sigmodontinae. Em A: *Necromys lasiurus*, B: *Oryzomys subflavus*, C: *Oryzomys* sp., D: *Oryzomys megacephalus* e E: *Oligoryzomys* sp. Notar o formato discoidal que as placentas apresentam. Barra = 1 cm. Ambas as imagens evidenciam a face fetal. A placenta da imagem A está seccionada sagitalmente. Barra = 1 cm.

O pedúnculo placentário, evidente em algumas espécies, não aparece nas espécies estudadas, pelo menos macroscopicamente. Em função disto, a placenta acopla-se diretamente a região de mesométrio, formando neste local uma depressão circular de natureza convexa onde se encaixa sua porção materna. No entanto, microscopicamente o pedúnculo placentário pôde ser definido como a região da placenta correspondente a decídua.

5.3 – ANÁLISE MICROSCÓPICA DA PLACENTA

A análise microscópica da placenta dos roedores da Subfamília Sigmodontinae foi realizada através da aplicação das técnicas de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão, com a finalidade de identificar as regiões que formam e compõem a placenta nas espécies estudadas, bem como a constituição celular das mesmas.

5.3.1 Microscopia de luz

Após analisar macroscopicamente o material, este foi processado seguindo-se técnicas rotineiras de processamento de tecidos adotadas no laboratório de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em seguida o mesmo foi embebido em paraplast para posterior análise ao microscópio de luz.

A placenta dos roedores sigmodontes aqui estudados apresentou componentes maternos e componentes fetais, os quais se associavam entre si na

forma de garantirem a realização das trocas metabólicas entre mãe e feto, permitindo conseqüentemente o desenvolvimento do feto até o nascimento.

Microscopicamente a placenta apresentou-se do tipo corioalantóidea, labiríntica, com zonas de espongiotrofoblasto e uma região de decídua materna. Recobrimo o disco placentário, observou-se uma placenta vitelina visceral (Figura 8). Estas características se mostraram comuns entre as cinco espécies de roedores da Família Cricetidae – Sigmodontinae abordados nesse estudo: *Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp., *Oryzomys megacephalus* e *Oligoryzomys* sp.

Em *Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp. e *Oryzomys megacephalus*, a placenta vitelina visceral recobre toda a parte da placenta principal (corioalantóidea) voltada para o feto (Figura 8). No entanto, em *Oligoryzomys* sp., observou-se que a placenta vitelina visceral recobre não somente a face fetal da placenta principal como também todo o restante do disco placentário, formando uma estrutura em forma de saco (Figura 8E).

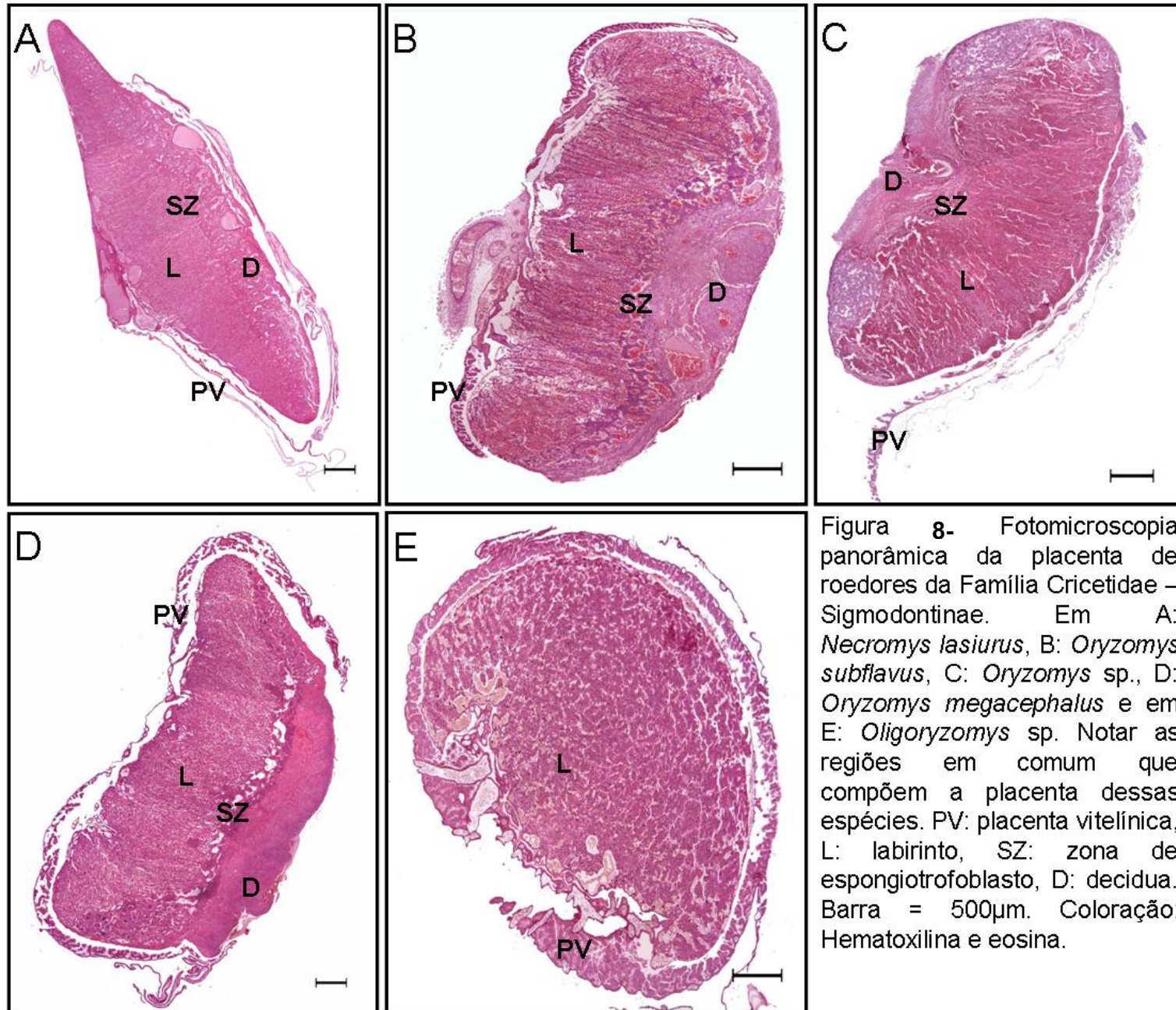


Figura 8.- Fotomicroscopia panorâmica da placenta de roedores da Família Cricetidae – Sigmodontinae. Em A: *Necromys lasiurus*, B: *Oryzomys subflavus*, C: *Oryzomys* sp., D: *Oryzomys megacephalus* e em E: *Oligoryzomys* sp. Notar as regiões em comum que compõem a placenta dessas espécies. PV: placenta vitelínica, L: labirinto, SZ: zona de espongiotrofoblasto, D: decídua. Barra = 500µm. Coloração: Hematoxilina e eosina.

A placenta vitelina corresponde a uma parede interna vascularizada por vasos sanguíneos vitelinos e sua formação resulta justamente de modificações do saco vitelino durante a gestação. É uma estrutura formada por células endodérmicas dispostas a formar inúmeras vilosidades digitiformes (Figura 9) que muitas vezes se ramificam (Figura 10). Estes vilos apresentam-se voltados para o lado fetal, sendo sustentados por um eixo de mesênquima fetal revestido por epitélio simples com células prismáticas, ricamente vascularizado por vasos vitelinos, além de estarem presentes ainda entre as vilosidades, as ilhotas vasculares da placenta vitelina (Figura 9).

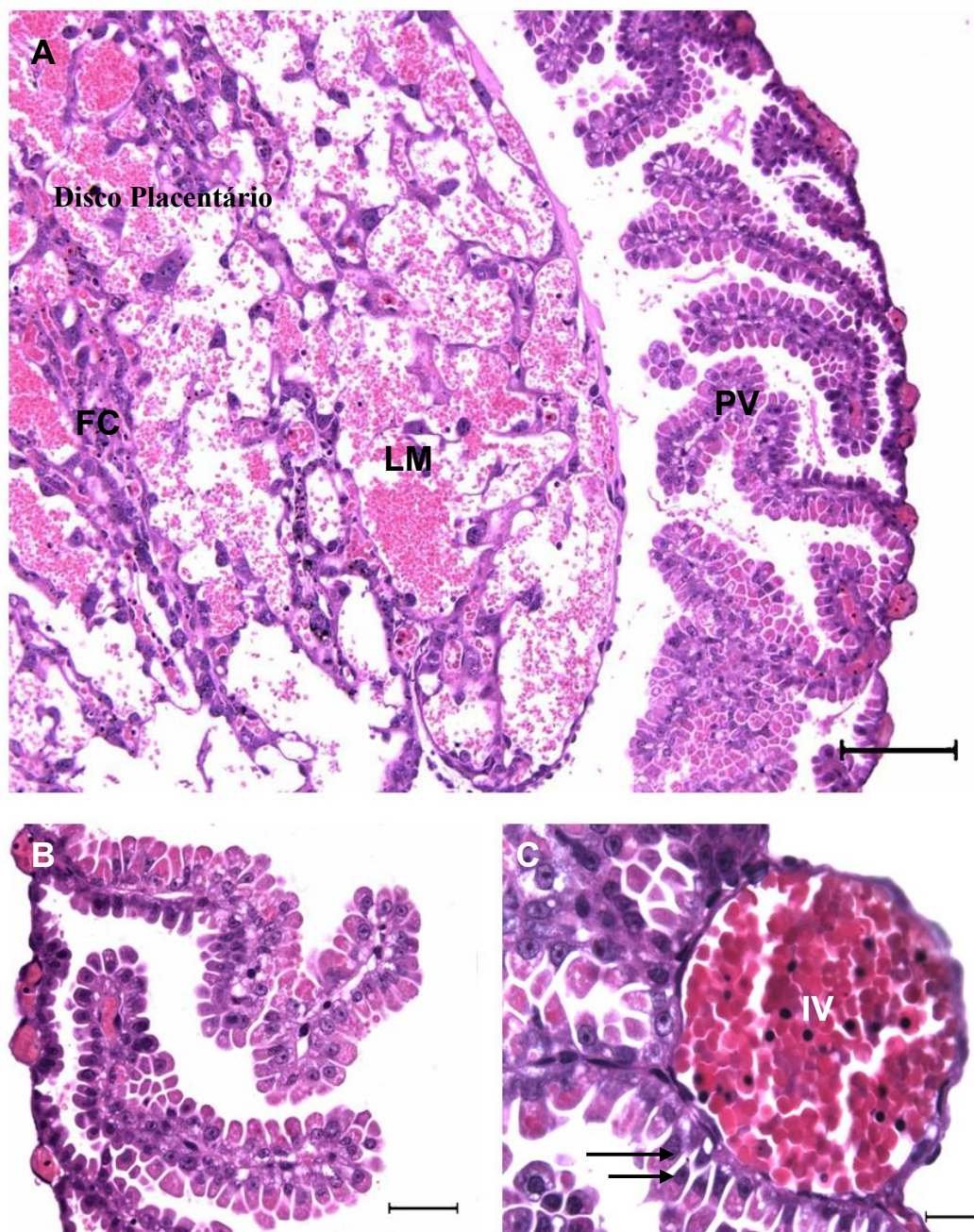


Figura 9 - Imagens evidenciando detalhes da placenta vitelina dos roedores da Subfamília Sigmodontinae em *Oryzomys subflavus*. Em A: disposição da placenta vitelina (PV) sobre o disco placentário evidenciado pela região de labirinto onde estão presentes as lacunas maternas (LM), e os capilares fetais (FC), Notar que as vilosidades da placenta vitelina apresentam-se voltadas para o disco placentário (Barra = 100 μm). Em B: observam-se detalhes dos vilos (Barra = 60μm) e em C, aumento mostrando detalhe de uma ilhota vascular (IV) repleta de hemangioblastos. Notar ainda o núcleo basal das células da placenta vitelina (setas). (Barra = 20μm). Coloração Hematoxilina & eosina

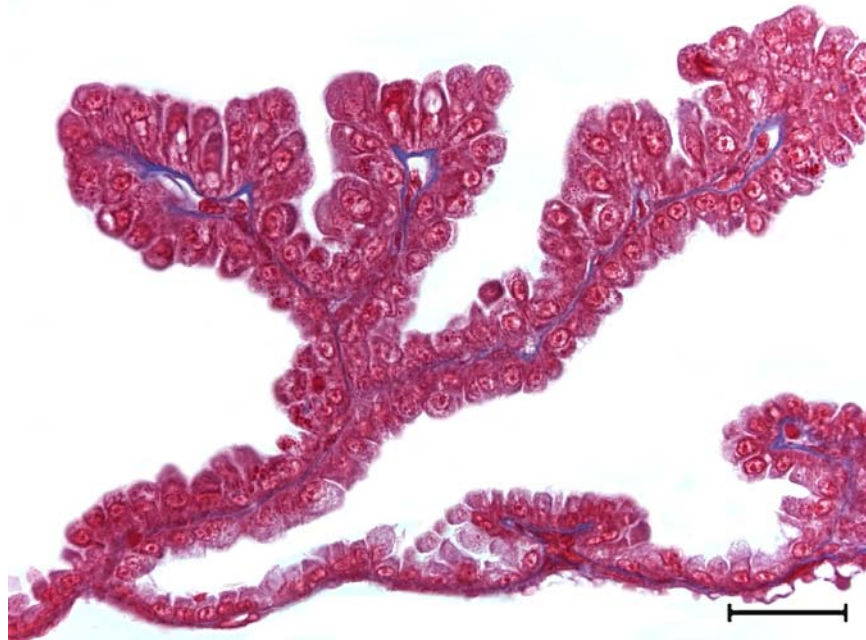


Figura 10 - Imagem evidenciando detalhes das ramificações digitiformes da placenta vitelina dos roedores da Subfamília Sigmodontinae em *Oryzomys megacephalus*. Barra = 40 μ m. Coloração Tricrômio de Masson

Em placentas de início de gestação, observou-se que a placenta vitelina com relação a suas vilosidades é mais desenvolvida do que as placentas em estágios mais avançados do desenvolvimento que apresentam um menor número de vilosidades e essas são menos ramificadas.

Após realizar a técnica de histoquímica com ácido periódico de Schiff (P.A.S.), constatou-se que, somente a placenta vitelina de *Oryzomys subflavus* foi positiva ao P.A.S. (Figura 11). Ainda notou-se na espécie, uma intensa atividade hemofágica nas células da placenta vitelina, evidente em lâminas coradas com Tricrômio de Masson (Figura 12).

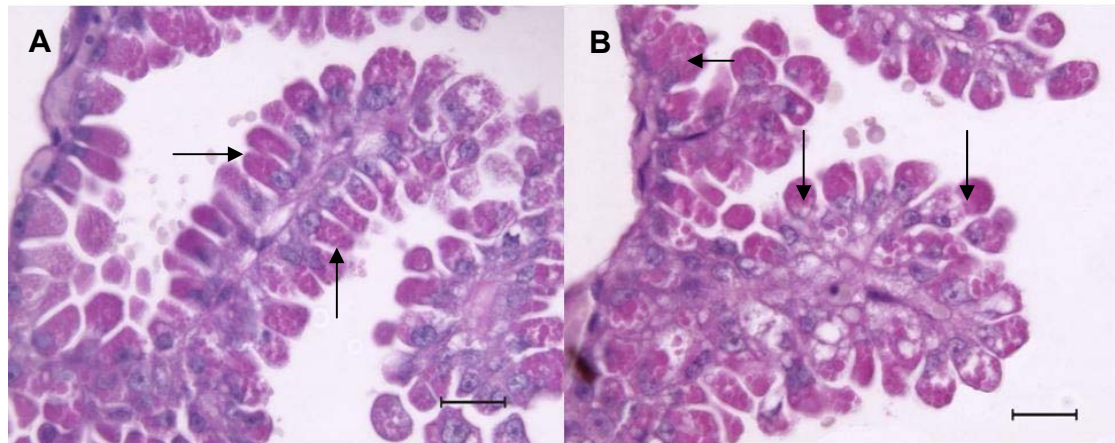


Figura 11 - A e B: Imagens da placenta vitelina de *Oryzomys subflavus*. Notar que as células endodérmicas das vilosidades vitelinas nessa espécie de sigmodonte mostraram-se positivas (setas) para a reação histoquímica com ácido periódico de Schiff (P.A.S.). Barra = 20 μ m

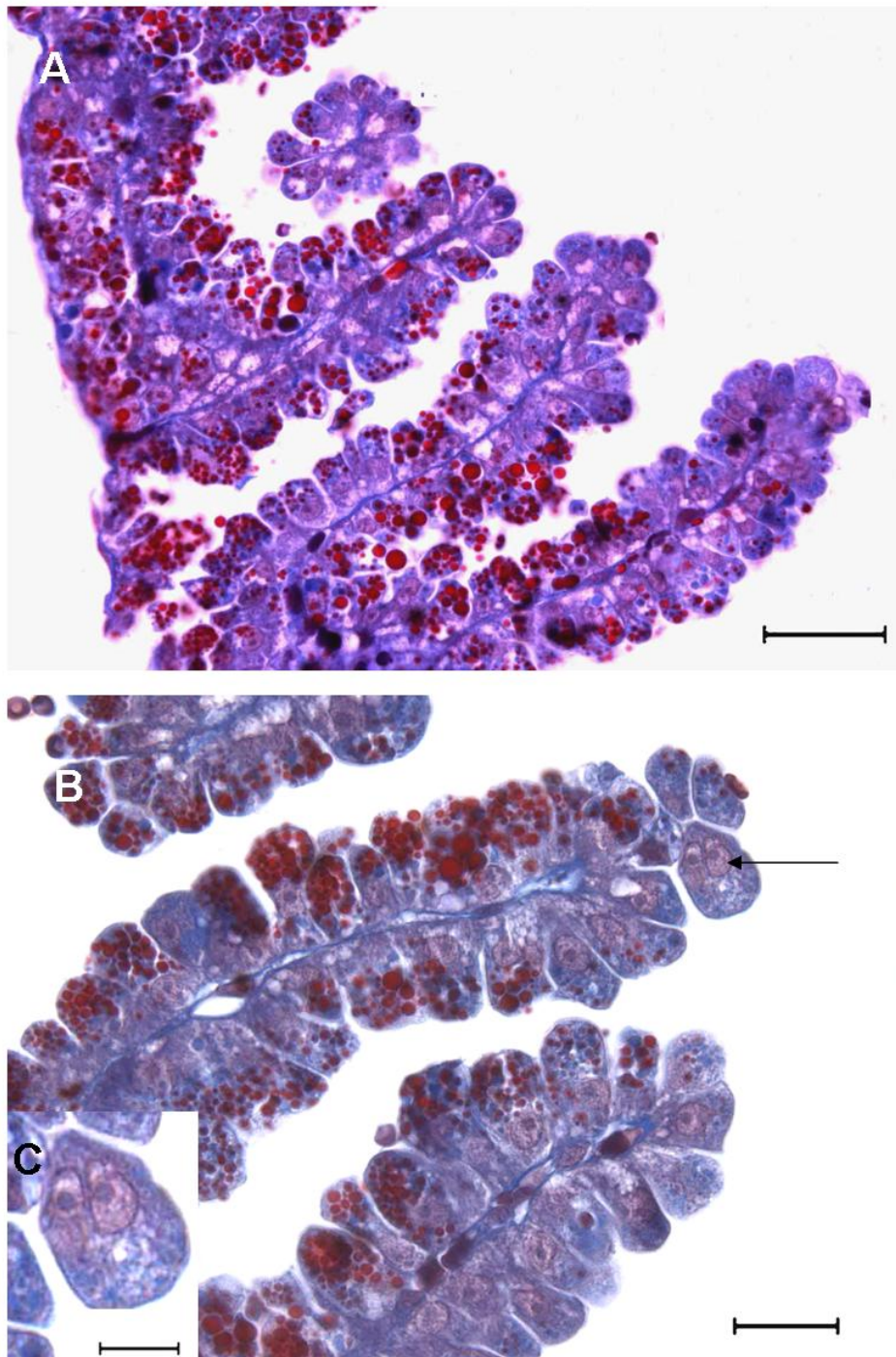


Figura 12 - Detalhes dos vilos da placenta vitelina de *Oryzomys subflavus*. Observar a intensa atividade hemofágica que essas células apresentam na sua região citoplasmática (vesículas avermelhadas). Observar em B, um vilos da placenta vitelina, contendo uma célula binucleada (Figura B - seta e Fig. C). Em A: barra = 40 μ m, em B: barra = 20 μ m e em C: barra = 10 μ m. Coloração Tricrômio de Masson

As células endodérmicas que formam as vilosidades da placenta vitelina, mostraram um formato cilíndrico comum para as cinco espécies. No entanto a posição do núcleo dessas células em *Necromys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp. e *Oryzomys megacephalus* apresentou-se situado na região basal das células, próximo ao eixo de mesênquima. Para *Oligorizomys* sp., o núcleo das células endodérmicas situava-se na região apical (Figura 13).

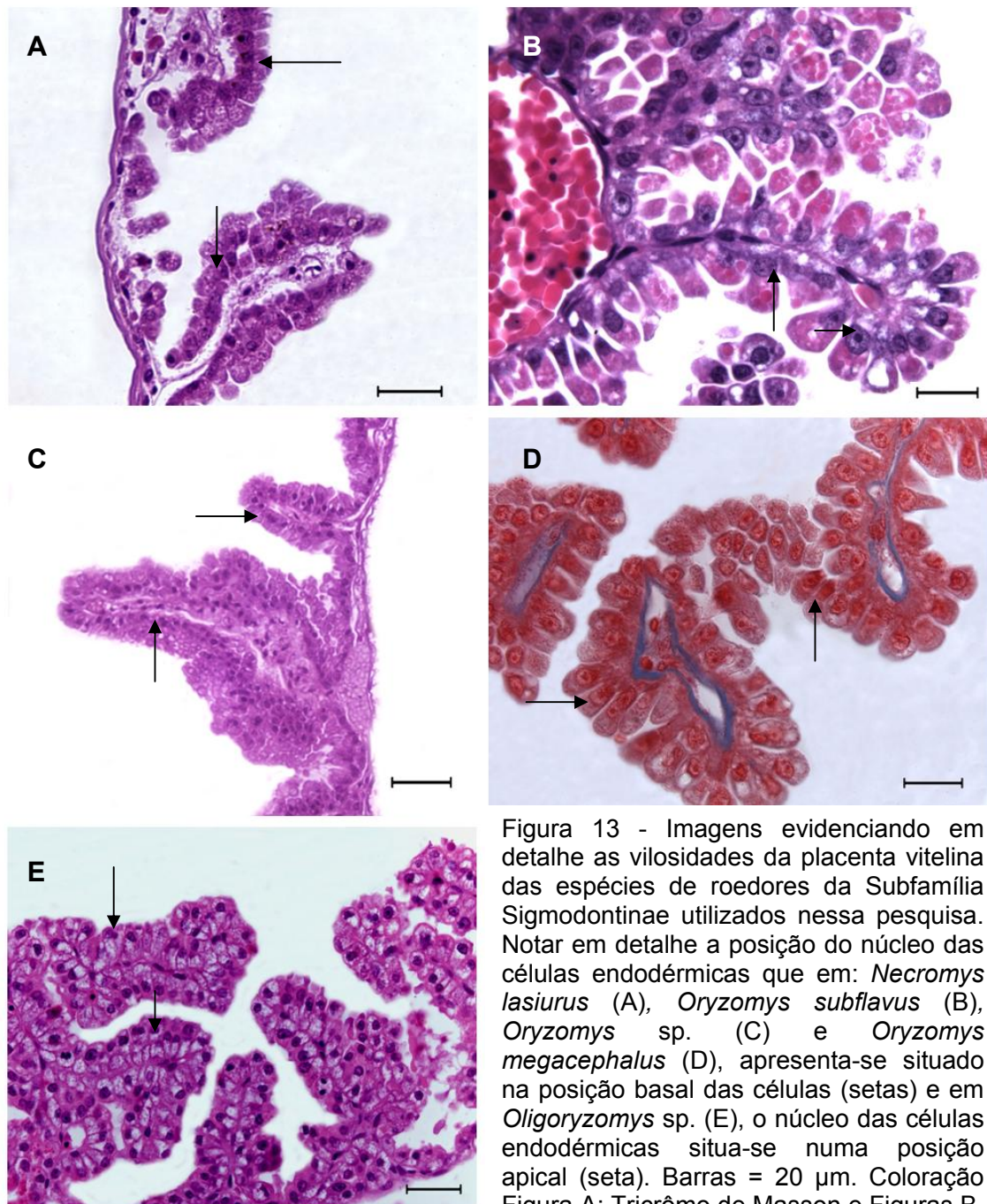


Figura 13 - Imagens evidenciando em detalhe as vilosidades da placenta vitelina das espécies de roedores da Subfamília Sigmodontinae utilizados nessa pesquisa. Notar em detalhe a posição do núcleo das células endodérmicas que em: *Necromys lasiurus* (A), *Oryzomys subflavus* (B), *Oryzomys* sp. (C) e *Oryzomys megacephalus* (D), apresenta-se situado na posição basal das células (setas) e em *Oligoryzomys* sp. (E), o núcleo das células endodérmicas situa-se numa posição apical (seta). Barras = 20 µm. Coloração Figura A: Tricrômio de Masson e Figuras B, C, D e E: Hematoxilina e eosina

Não foi observada a placenta vitelina parietal em nenhum dos materiais coletados e analisados.

O labirinto placentário constitui a maior porção do disco placentário em uma visão panorâmica da placenta (Figura 14). É formado por colunas de células trofoblásticas, que delimitam lacunas tubulares (preenchidas de sangue materno extravasado) não revestidas de endotélio (Figura 15), que são delimitadas através de colunas ou cordões de células trofoblásticas que são percorridas por típicos capilares fetais revestidos por endotélio.

Na região de labirinto placentário, foram observados os capilares fetais dispostos radialmente, ou seja, paralelamente entre as lacunas de sangue materno extravasado (Figura 15).

Os capilares fetais na região de labirinto placentário apresentam células endoteliais aparentemente formadas por uma única camada. As células endoteliais dos capilares fetais apresentam núcleos de perfil alongado que são raramente observados (Figura 16).

Ainda no labirinto placentário, foram observadas células trofoblásticas de natureza sincicial, denominadas de sinciotrofoblasto. Essa estrutura é caracterizada pela forma em que se organizam os núcleos celulares, estando estes bem próximos uns dos outros (Figura 16).

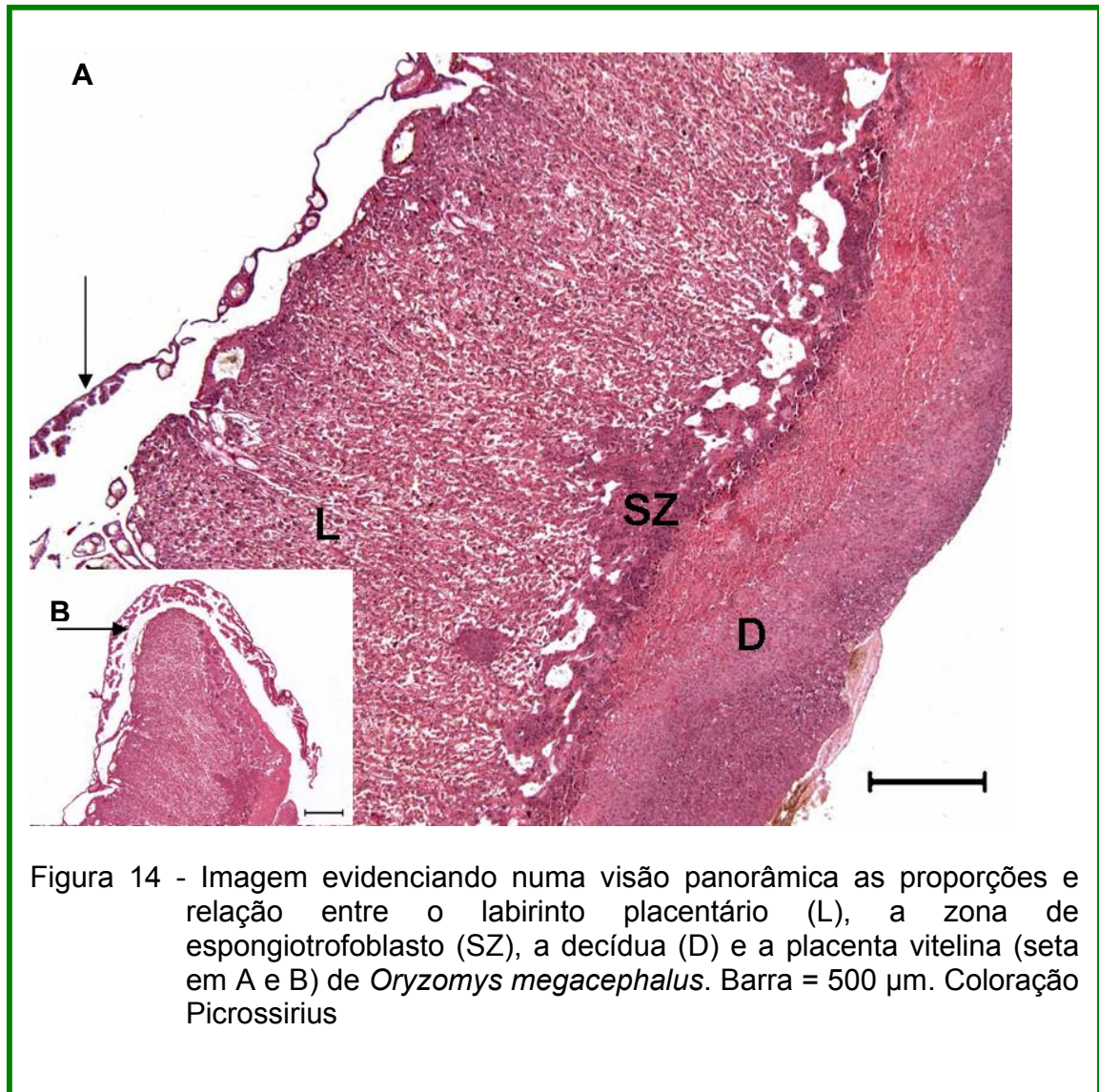


Figura 14 - Imagem evidenciando numa visão panorâmica as proporções e relação entre o labirinto placentário (L), a zona de espongiotrofoblasto (SZ), a decídua (D) e a placenta vitelina (seta em A e B) de *Oryzomys megacephalus*. Barra = 500 μm. Coloração Picrossirius

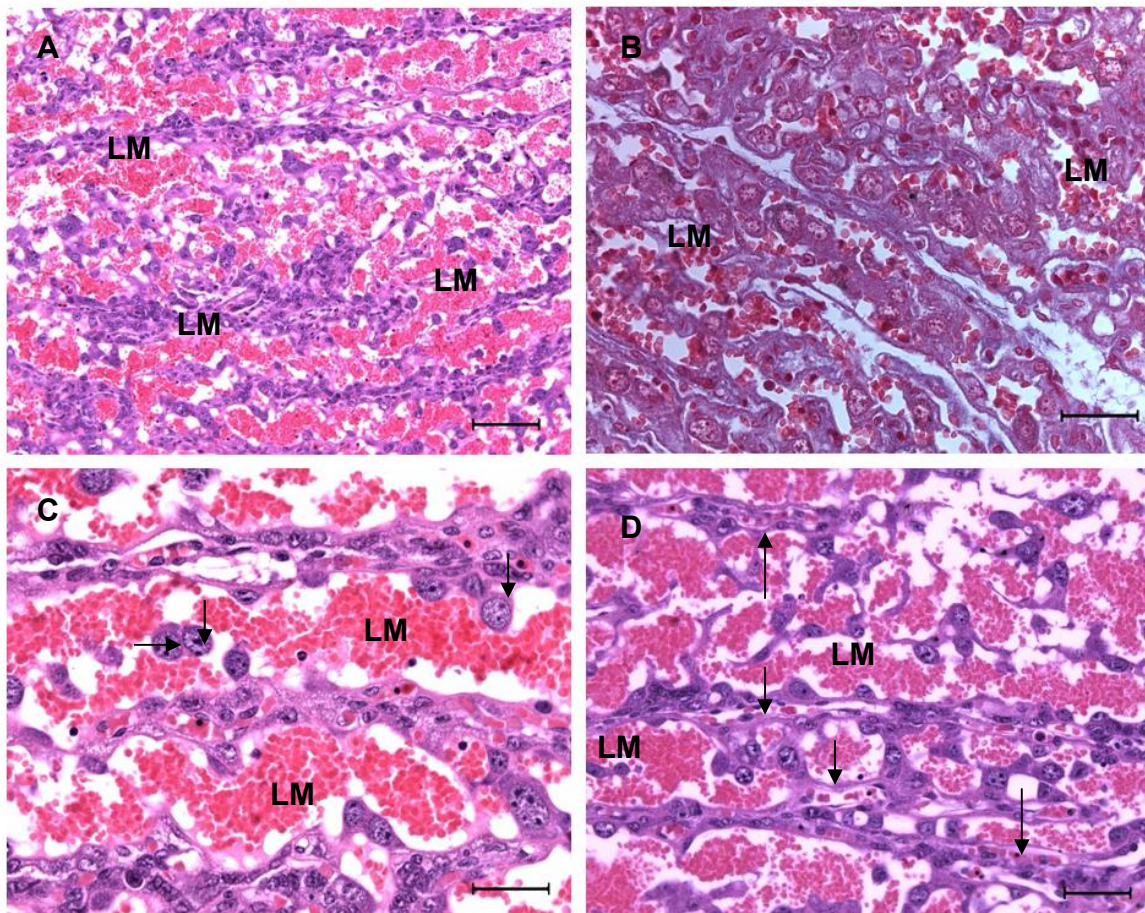


Figura 15 - Imagens evidenciando a região de labirinto placentário. Em A e B: Região de labirinto de *Oryzomys subflavus* e *Oligoryzomys* sp. respectivamente, notar a grande quantidade de sangue materno extravasado nas lacunas maternas (LM). Barra 100 μ m e 40 μ m. Figuras C, D e E: Região de labirinto de *Oryzomys subflavus*. Em C: Notar que as lacunas maternas (LM) não apresentam endotélio de revestimento, sendo observado ainda nessa região uma grande quantidade de células trofoblásticas (setas). Barra = 50 μ m. Em D: Observar entre as lacunas maternas (LM) os capilares fetais (setas). Esses capilares apresentam uma disposição radial na placenta das espécies de sigmodontes abordados nessa pesquisa. Barra = 40 μ m. Coloração Hematoxilina e eosina

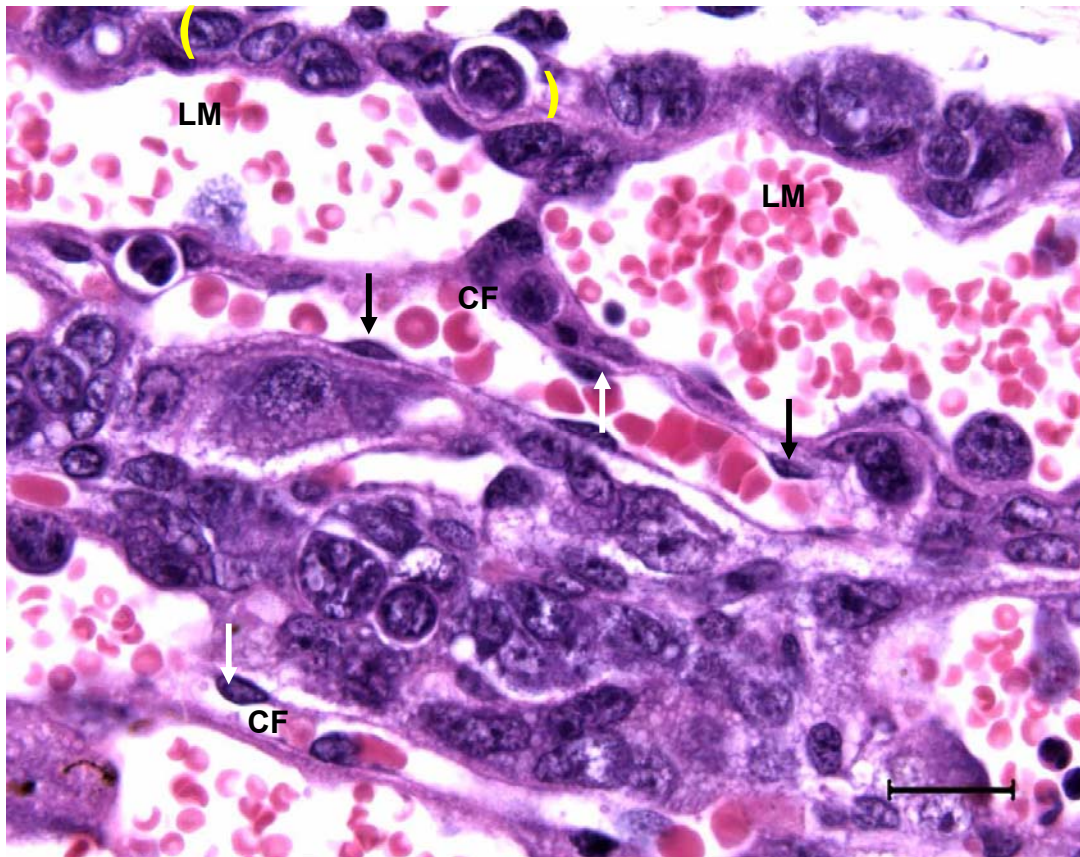
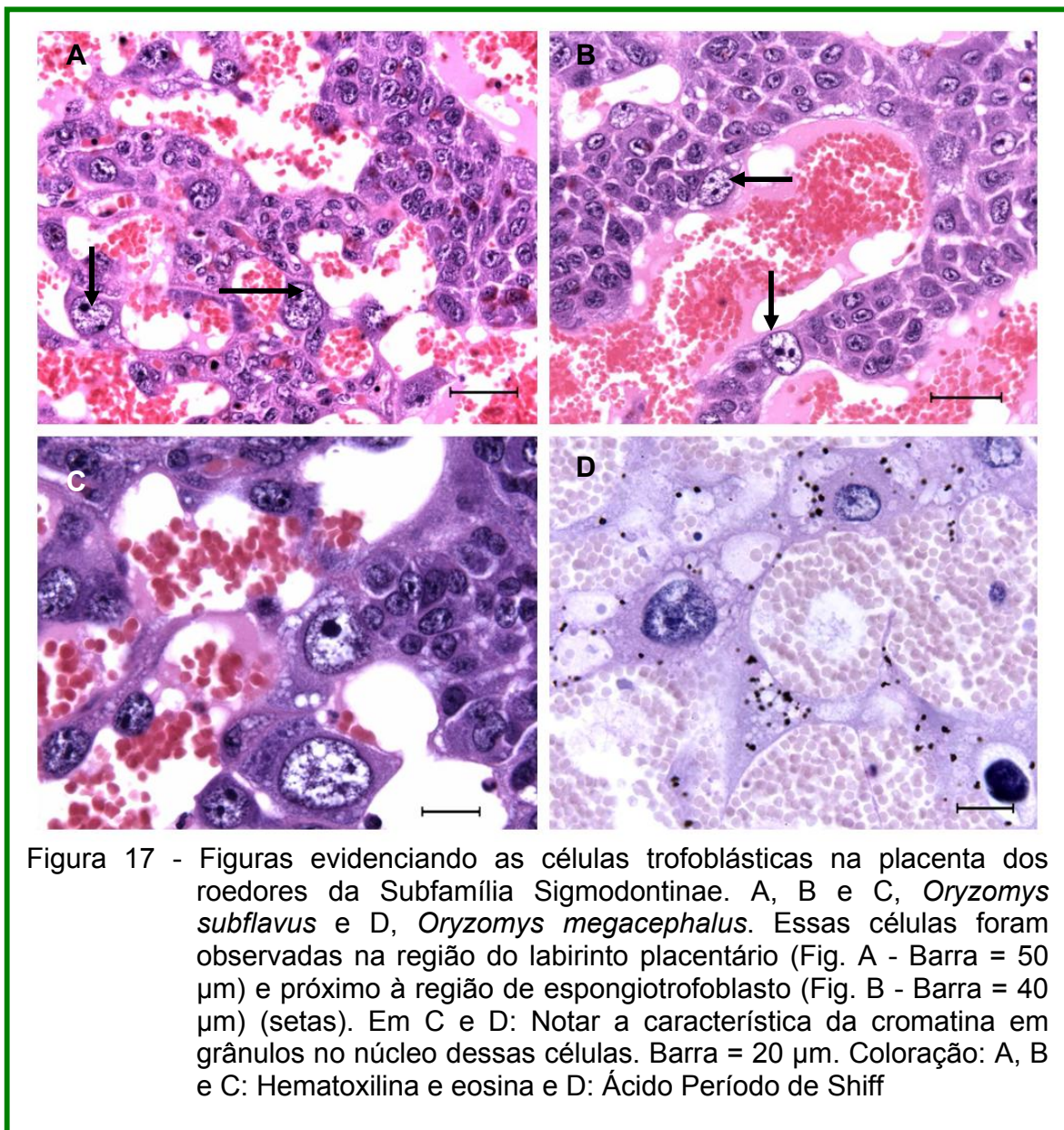


Figura 16 - Imagem da região do labirinto placentário de *Oryzomys subflavus*. Observar os capilares fetais (CF) dispostos paralelamente entre as lacunas (LM) de sangue materno extravasado repletas de sangue. Notar as células endoteliais dos capilares (setas) que apresentam um perfil alongado. Nota-se ainda a proximidade dos núcleos das células do sinciotrofoblasto (()). Barra = 20 μ m. Coloração Hematoxilina e eosina

Entre os capilares fetais e as lacunas maternas, estavam presentes inúmeras células trofoblásticas. Essas células são facilmente diferenciadas dos outros tipos celulares presentes na região do labirinto pelo seu maior tamanho. As células trofoblásticas apresentam núcleos grandes, globosos ou ovóides com cromatina em grânulos (Figura 17). Essas células foram observadas na placenta das 5 espécies.



Na porção mais periférica do disco placentário, próximo a placenta vitelina, foi possível notar uma faixa de trofoblasto correspondente ao sincício marginal composto por uma grande quantidade de lacunas maternas. Nesta região, era evidente uma distância maior entre os núcleos que constituíam as células sinciciais (Figura 18).

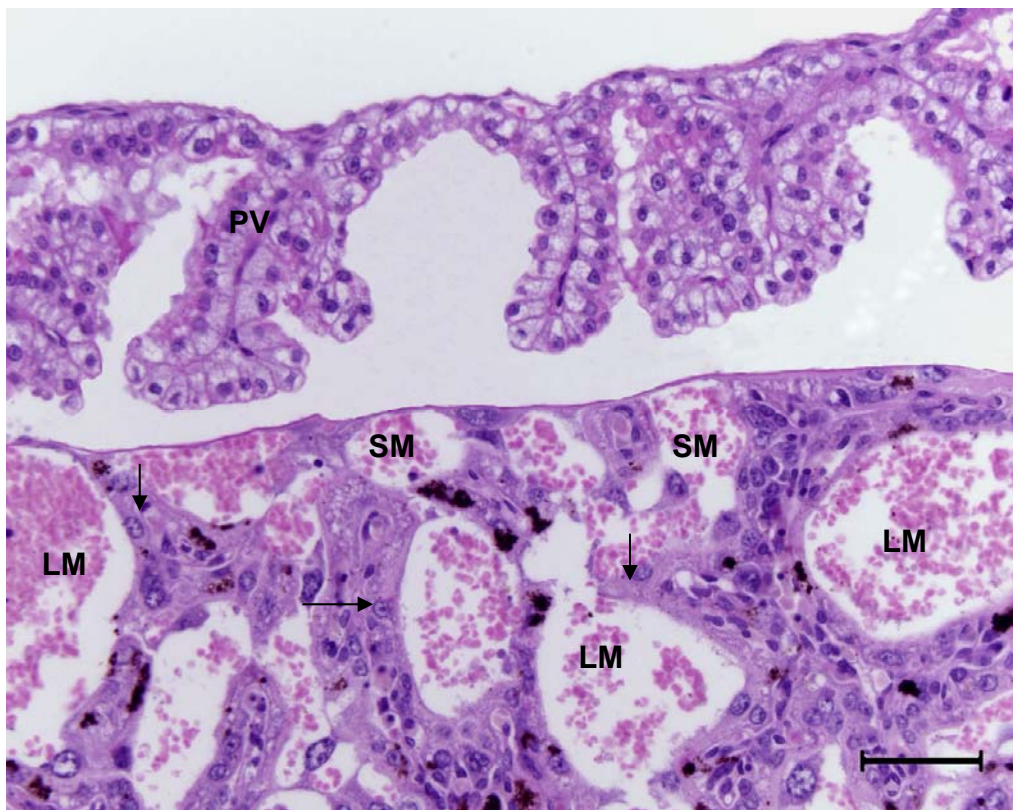


Figura 18 - Imagem da região de sincício marginal (SM). Essa região foi observada na placenta das espécies de sigmodontes e está representada aqui por *Oryzomys megacephalus*. Esta é uma região localizada na periferia da placenta, próxima a placenta vitelina (PV) e é caracterizada pela grande quantidade de lacunas de sangue materno (LM) presentes na região. Pode-se notar ainda que as células sinciciais estavam distantes umas das outras, caracterizada pela distância entre os núcleos destas células (setas). Barra = 40 μ m. Coloração Hematoxilina e eosina

A zona de espongiotrofoblasto é formada por células trofoblásticas, na grande maioria das vezes essa região da placenta mostrou-se com um formato lobulado, entretanto, foi observado que placentas nos estágios iniciais de gestação apresentavam uma desorganização nas células dessa região. Nas placentas a termo, observou-se que as células da região de espongiotrofoblasto estão mais agrupadas e tendem a tornar-se uma faixa contínua (Figura 19).

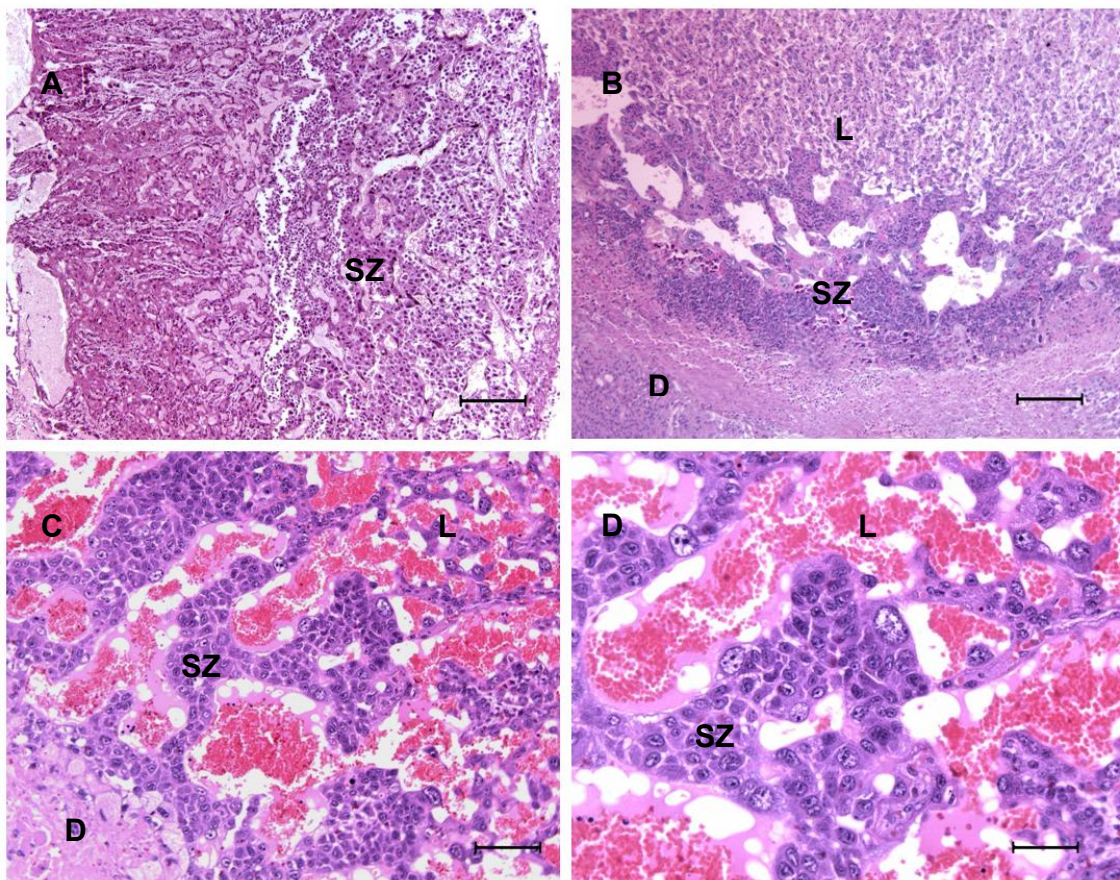


Figura 19 - Imagens da região de espongiotrofoblasto na placenta de roedores da Subfamília Sigmodontinae. Em A: Imagem de uma placenta de *Necromys lasiurus* em início de gestação. Notar que as células da região de espongiotrofoblasto (SZ) nesse período não apresentam ainda uma disposição em lóbulos. Barra = 200 μ m. Em B, C e D: Região de espongiotrofoblasto em placentas a termo, nesse período a região referida já se apresenta como uma faixa contínua com característica lobulada entre o labirinto (L) e a decídua (D). Em B: placenta de *Oryzomys megacephalus* e em C e D: *Oryzomys subflavus*. B, barra = 200 μ m; C = 100 μ m e D = 50 μ m. Coloração: Hematoxilina e eosina

Outro componente celular observado foram às células trofoblásticas gigantes caracterizadas por apresentarem um citoplasma acidófilo, volumoso e núcleos grandes com afinidade eosinófila. Essas células na maioria das vezes agrupam-se formando uma faixa contínua entre a região de espongiotrofoblasto e a região de decídua (Figura 20).

Uma outra população de células gigantes foi observada em diferentes regiões da placenta. Elas foram observadas dispersas entre a região de espongiotrofoblasto e também próximo aos vasos sanguíneos maternos na região de decídua. Sendo também visualizadas em aglomerações nas extremidades da placenta principal em cortes longitudinais (Figura 21).

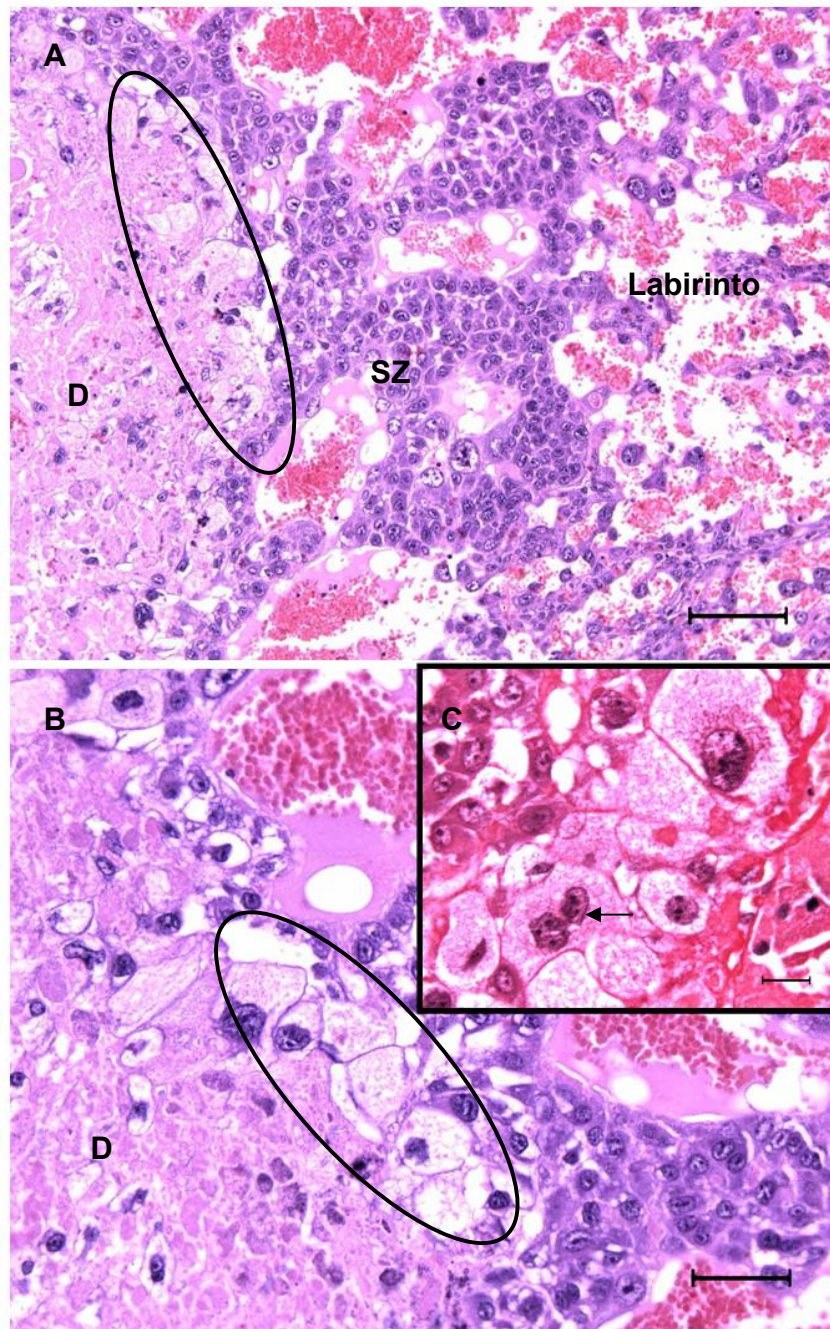


Figura 20 - Imagem das células gigantes na placenta dos roedores da Família Sigmodontinae, representada aqui por *Oryzomys subflavus*. Em A: As células gigantes (círculo) estavam localizadas entre a zona de espongiotrofoblasto (SZ) e a decidua materna (D). Barra = 100 μ m. Em B: Notar que as células gigantes organizam-se de modo a formar uma faixa contínua entre essas regiões. Barra = 50 μ m. Em C: Imagem evidenciando a característica volumosa do citoplasma, com o núcleo desenvolvido e muitas vezes apresentando dois núcleos (seta). Barra = 20 μ m. Coloração A e B: Hematoxilina e eosina e C: Picrossirius

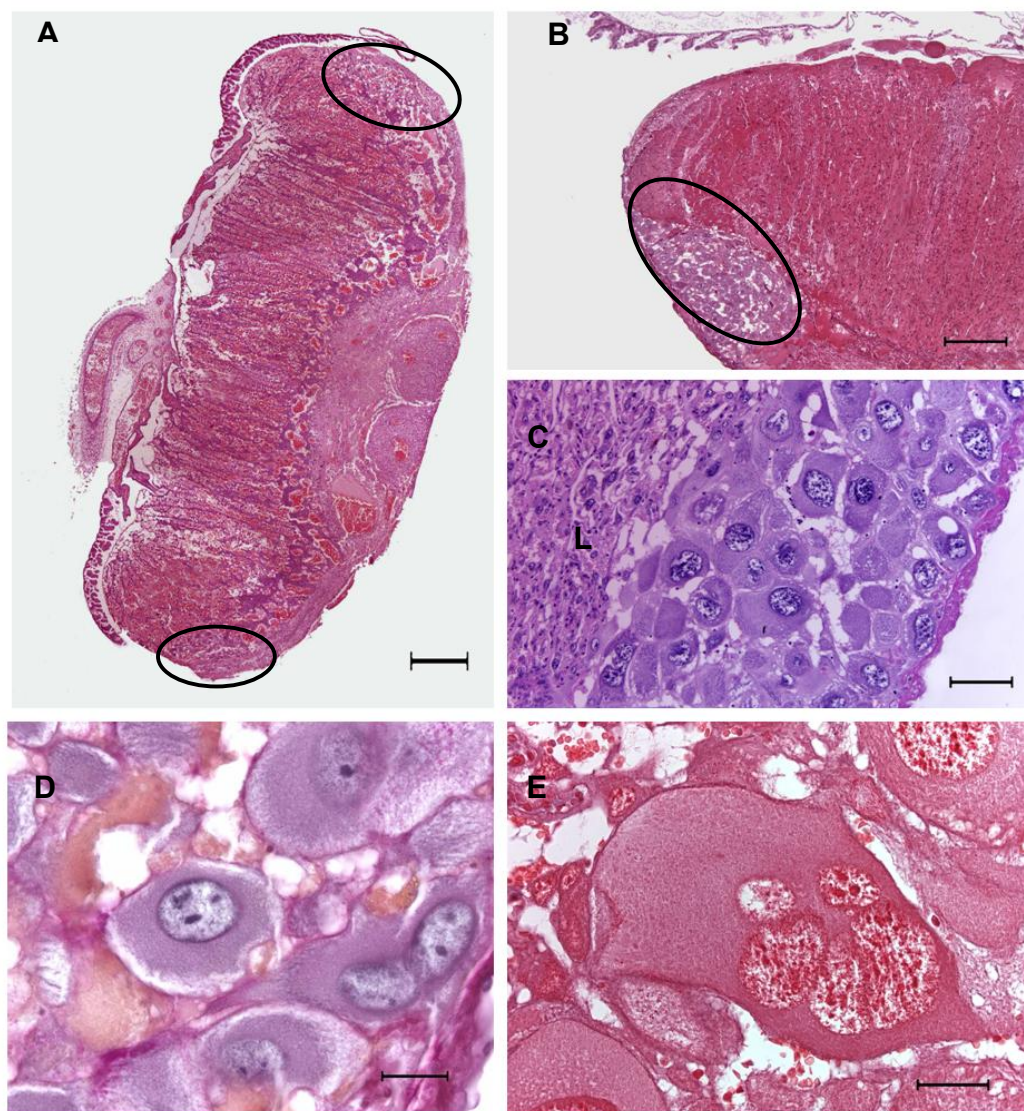


Figura 21 - Cortes longitudinais da placenta de roedores da Subfamília Sigmodontinae. Em A e B: Visão panorâmica do disco placentário evidenciando a localização nas margens da placenta de populações de células gigantes (círculos). A: *Oryzomys subflavus*, Barra = 500 μm e B: *Oryzomys* sp., Barra = 200 μm . Em C: Observar em maior aumento a massa de células gigantes e sua relação com o labirinto (L) na placenta de *Oryzomys megacephalus*. Barra = 100 μm . Em D e E: Detalhes das células gigantes na placenta de *Oligoryzomys* sp. Notar o citoplasma abundante e o núcleo bastante desenvolvido que estas possuem. Barra = 40 μm . Observar em E que essas células podem apresentar mais de um núcleo, onde são observados grânulos de cromatina. Barra = 40 μm . Coloração: A e C, hematoxilina e eosina e B, D e E, Picrossirius

A decídua é uma região de tecido de origem materno, e resulta do crescimento e proliferação do estroma da camada funcional do endométrio uterino. Nessa região as células apresentam uma morfologia bastante semelhante entre si. São células pequenas com citoplasma abundante e acidófilo, com núcleos ovóides e ligeiramente eosinófilos, localizados na região central do citoplasma da célula. Na região da decídua, foi observado ainda uma grande quantidade de vasos sanguíneos (Figura 22). Estas características são comuns para as cinco espécies estudadas.

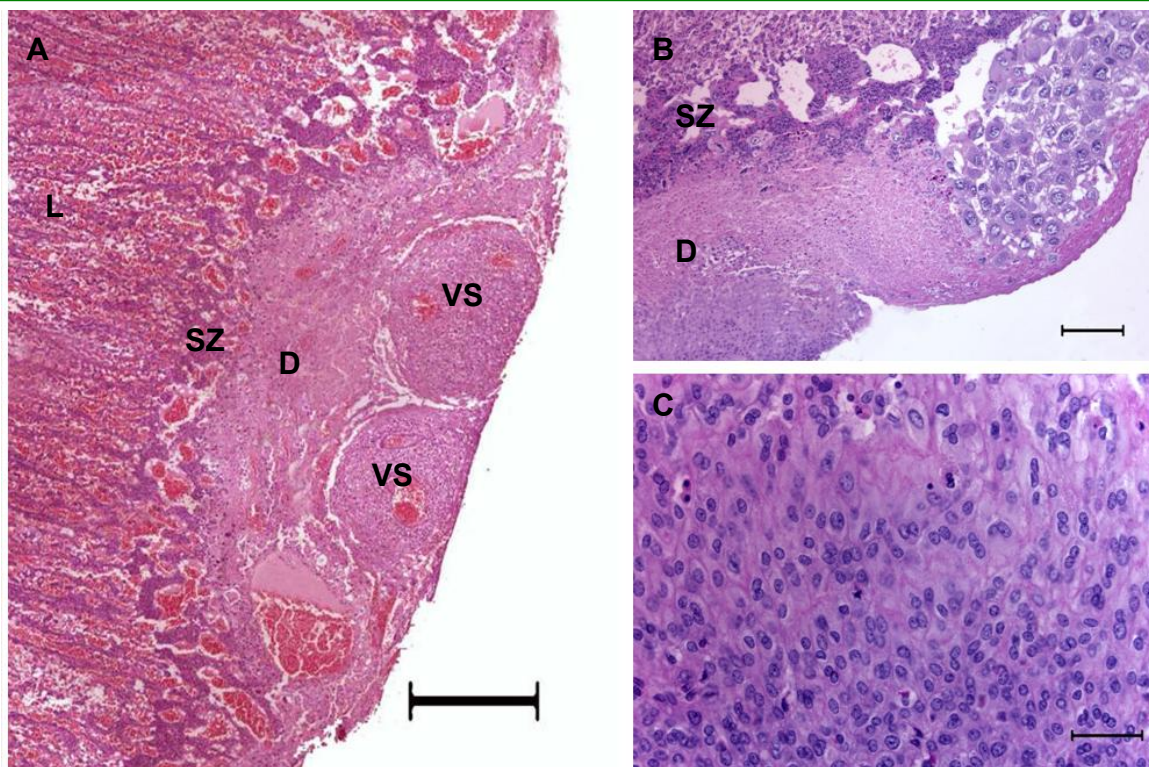


Figura 22 - Em A e B: Visão geral da região de decídua (D) na placenta de *Oryzomys subflavus* e *Oryzomys megacephalus* respectivamente. Observar sua sintopia com o labirinto placentário (L) e zona de espongiotrofoblasto (SZ) com a qual mantém um contato íntimo. Em A: Pode-se observar ainda uma grande quantidade de vasos maternos nessa região (VS). Figura A, barra = 500 μ m e B: = 200 μ m. Em C: Notar a característica das células decíduais na placenta de *Oryzomys megacephalus*. São células pequenas de citoplasma abundante e núcleos ovóides. Barra = 40 μ m. Coloração Hematoxilina e eosina

Em todas as espécies estudadas neste projeto, as células da decídua foram positivas ao P.A.S. Estas células apresentaram grânulos P.A.S. – positivos que ocupam a maior parte do citoplasma, formando aglomerados. A maior parte dessas células estavam localizadas próximas aos vasos sanguíneos maternos, presentes nesta região de decídua, sendo observada uma grande quantidade de matriz extracelular ao redor das células P.A.S. – positivas (Figura 23).

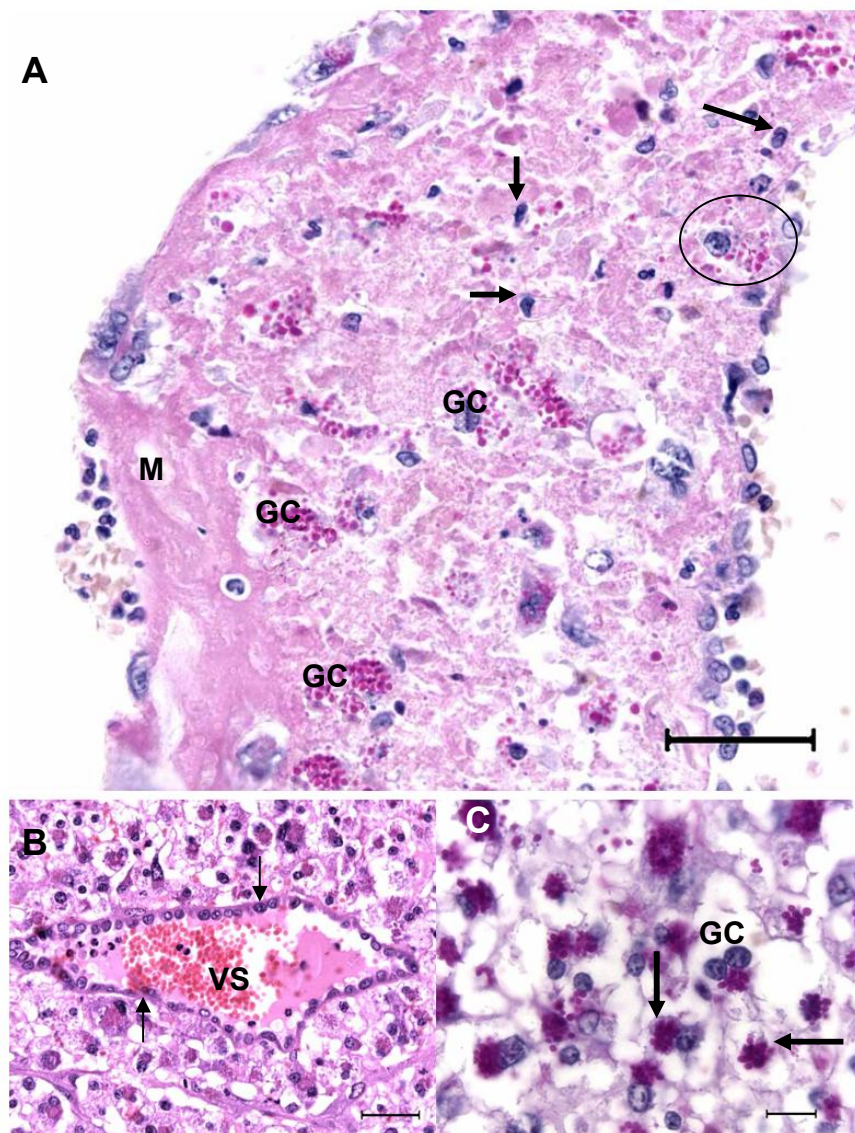


Figura 23 - Imagens da região de decídua da placenta de roedores da Subfamília Sigmodontinae. Em A: Visão panorâmica da decídua de *Oligoryzomys* sp. Observar que esta região possui células de depósito de glicogênio (GC). Essas células exibem grânulos que estão localizados no citoplasma de grandes células (círculo), quando comparadas às células do tecido conjuntivo: fibroblastos e leucócitos (setas). Uma grande quantidade de matriz extracelular (M) pôde ser observada. Barra = 40 μ m. Em B: Detalhe de um vaso sanguíneo (VS) materno localizado na decídua de *Oryzomys subflavus*. Notar as células endoteliais que revestem a parede do vaso (setas). Barra = 40 μ m. Em C: Detalhes das células de depósito de glicogênio (GC) repletas de grânulos PAS - positivos na placenta de *Oryzomys subflavus*. Barra = 20 μ m. Reação histoquímica de ácido periódico de Schiff

Uma outra observação importante foi quanto a grande quantidade de células do sistema imunológico, que estavam presentes na região da decídua das 5 espécies de sigmodontes, sendo que os leucócitos polimorfonucleares estavam presentes próximos a vasos sanguíneos, entre as células P.A.S. – positivas (Figura 24).

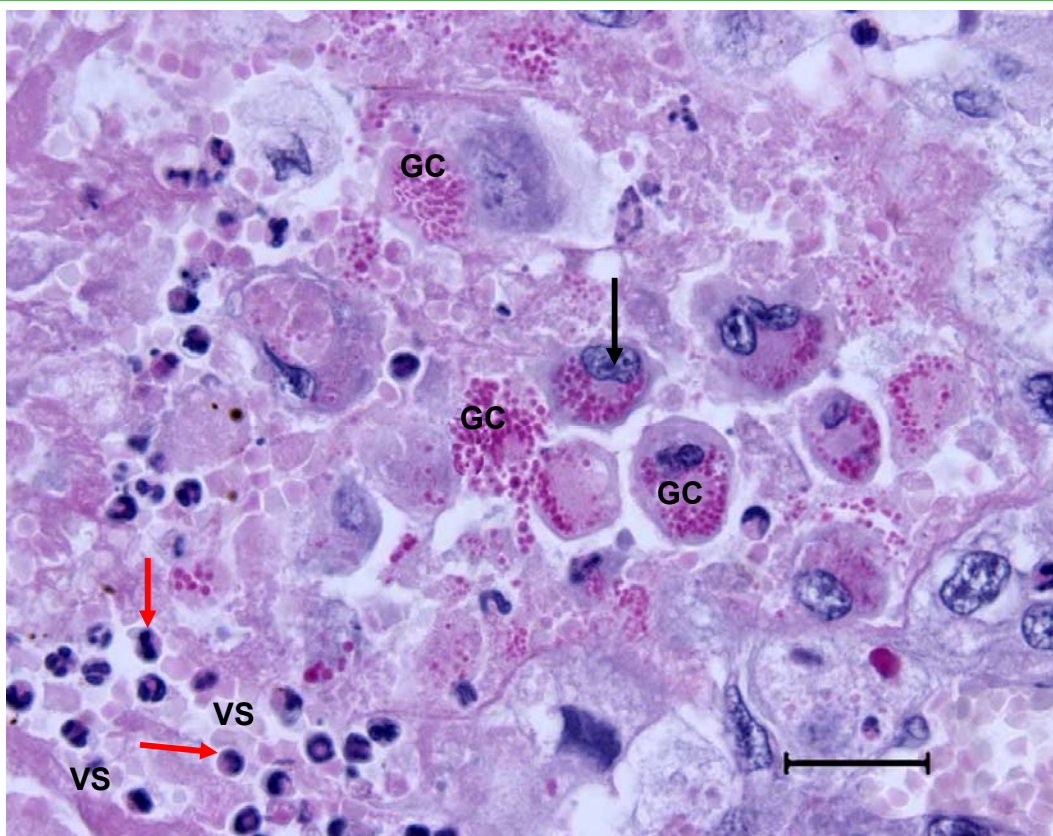


Figura 24 - Imagem evidenciando a presença de leucócitos polimorfonucleares na região de decídua da placenta dos roedores da Subfamília Sigmodontinae, evidenciado nessa imagem de decídua de *Oligoryzomys* sp. Observar o citoplasma das células contendo grânulos de glicoproteínas PAS - positivos, sendo essas células gigantes, muitas vezes binucleadas (seta preta). Adjacente a essas, uma grande quantidade de leucócitos (polimorfonucleares) nitidamente menores (setas vermelhas) foram observados no interior dos vasos sanguíneos (VS) e fora desses, indicando uma reação modeladora e moduladora. Barra = 40 μ m. Reação histoquímica de ácido periódico de Schiff

5.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão foi empregada, com a principal finalidade, de descrever e caracterizar os elementos que compõe a barreira-placentária das espécies de roedores da Família Cricetidae-Sigmodontinae, aqui estudadas, com relação ao número de camadas de tecido que separam a circulação materna da circulação fetal, impedindo um contato direto entre os sistemas sanguíneos dos dois indivíduos na região de labirinto placentário. Confirmando com isso, a qual modelo hemocorial (mono, di ou tri) estas placentas correspondem.

Com a aplicação da mesma, foi possível caracterizar ultra-estruturalmente a placenta vitelina e a região da decídua materna.

Devido a melhor fixação do material oriundo das espécies: *Oryzomys* sp. e *Necomys lasiurus*, a técnica de microscopia eletrônica de transmissão foi aplicada nessas duas espécies, com as quais obtivemos bons resultados que se seguem.

***Oryzomys* sp.**

A placenta vitelina apresentou as células endodérmicas com núcleos dispostos na região basal da célula. O citoplasma destas células era bastante volumoso e repleto de vacúolos, principalmente na região supra-nuclear (Figura 25 A).

Na membrana apical das células endodérmicas foi observada uma grande quantidade de microvilosidades (Figura 25 B) enquanto que o citoplasma apresentou mitocôndrias e cisternas de retículo endoplasmático rugoso (Figuras 25 B e C).

Em algumas destas células notou-se através da microscopia eletrônica de transmissão, grânulos de glicogênio, os quais estavam rodeados por vacúolos (Figuras 25 D e 26).

Em *Oryzomys* sp., foi observada uma relação muito íntima entre as células endodérmicas da placenta vitelina, estando estas muito próximas uma das outras. Em aumentos maiores, foi possível evidenciar junções intercelulares bem desenvolvidas (Figura 25 E).

Foram evidentes nas células endodérmicas, regiões citoplasmáticas nas quais foram observados espaços intercelulares. Estas regiões apresentam uma membrana apical, voltada para a luz, repleta de microvilosidades, semelhantes àquelas observadas na região apical das células (Figura 26). Logo abaixo destas células, foram observados capilares vitelinos responsáveis pelo transporte de gases e nutrientes. Estes capilares possuíam regiões fenestradas na parede endotelial (Figuras 25 e 27).

Disperso pelo tecido conjuntivo que rodeia os capilares vitelinos, foram observados mitocôndrias e lisossomos (Figura 27).

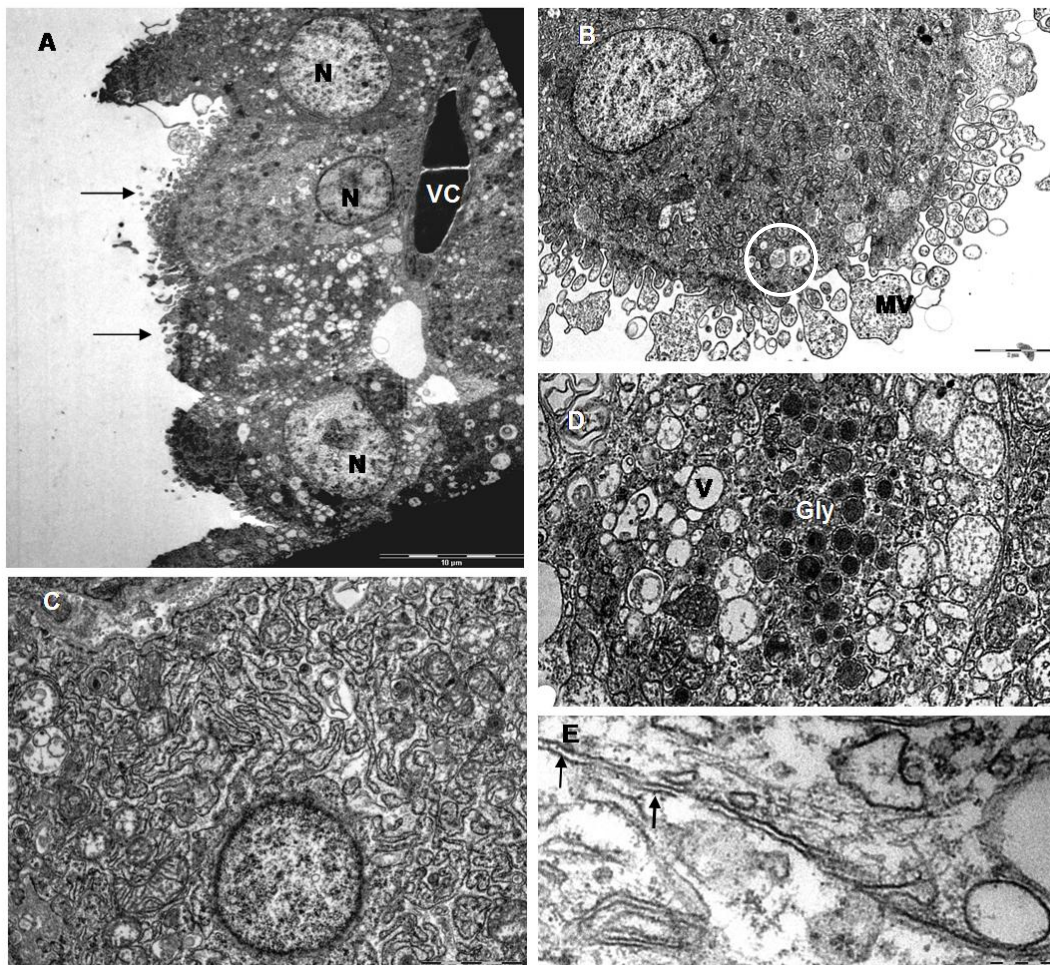


Figura 25 - Eletromicrografias da placenta vitelina de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae), representando a porção visceral. Em A: As células endodérmicas apresentam núcleos basais (N), grandes e arredondados, e são ricas em vilosidades (setas) na região apical. Logo abaixo do epitélio são observados capilares vitelinos (VC). Em B: Detalhe de uma célula endodérmica evidenciando as microvilosidades (MV) na membrana apical. Notar no citoplasma regiões de vacúolos (círculo) que estão presentes ao longo de toda a célula. Em C: Citoplasma de uma célula endodérmica mostrando numerosas cisternas de retículo endoplasmático rugoso, contendo quantidade moderada de material eletro-denso. Em D: Detalhe de uma região de depósito de glicogênio (Gly) no citoplasma da célula, e vacúolos (V). Em E: As junções intercelulares são desenvolvidas (setas). Aumentos: A:1800X, B: 7100X, C: 3500X, D: 11000X e E: 56000X

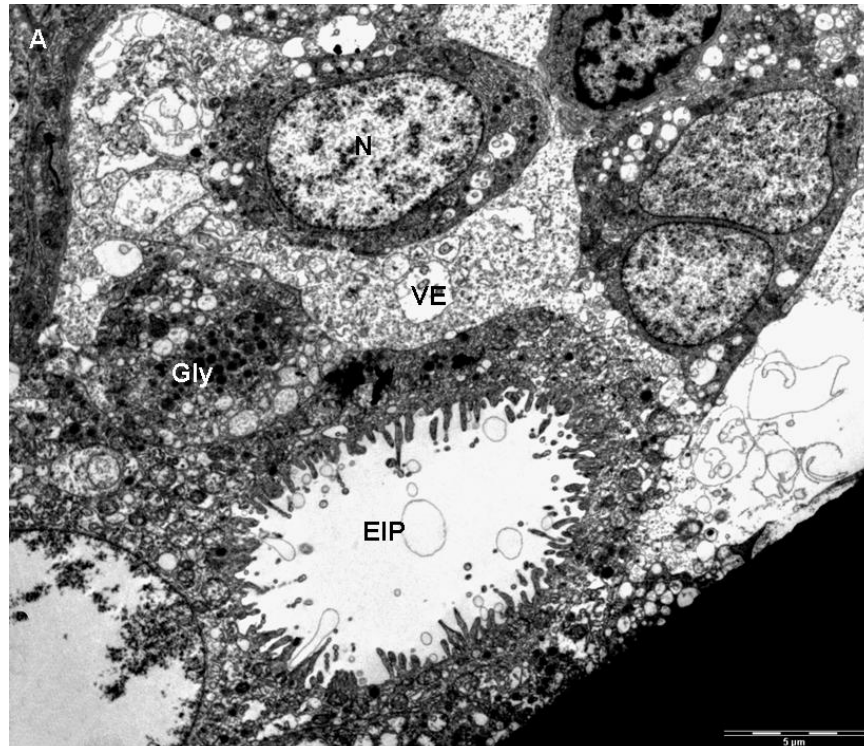


Figura 26 - Eletromicrografia da placenta vitelina de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae). Observar no citoplasma da célula regiões de deposição de glicogênio (Gly), vesículas endocíticas (VE) e o núcleo da célula (N) em formato oval. Notar ainda espaços intercelulares proeminentes (EIP) com projeções citoplasmáticas na luz, estas microvilosidades são semelhantes às observadas na região apical da célula. Aumento 2800X

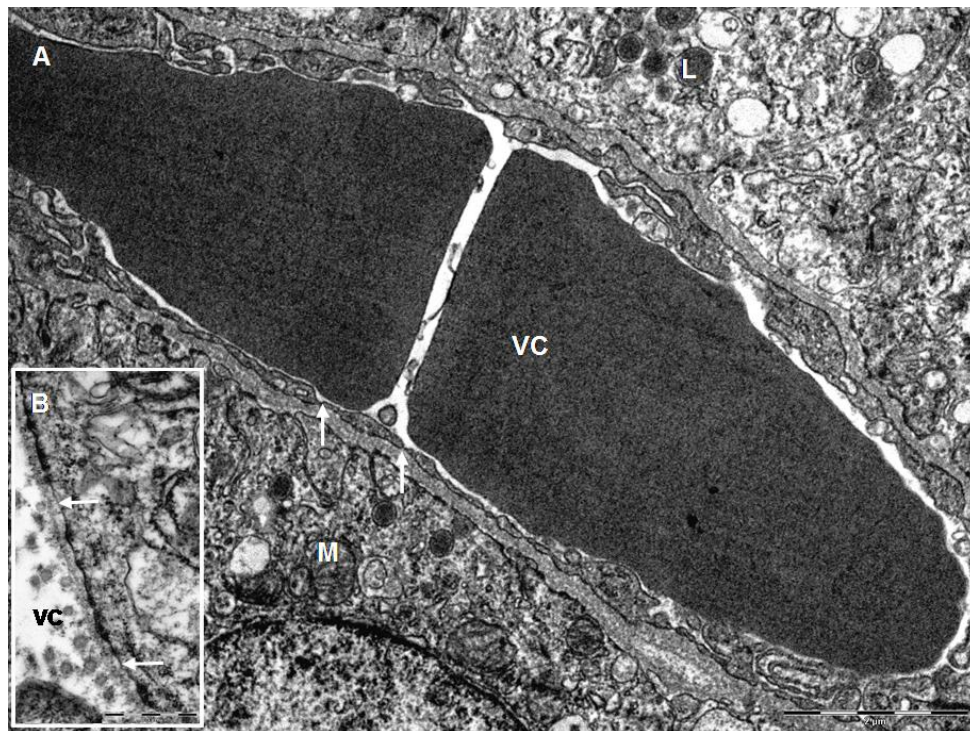


Figura 27 - Eletromicrografia da placenta vitelina de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae). Em A: Detalhe de um capilar vitelínico (VC). Nota-se no endotélio do capilar regiões com fenestrações (setas). Ao redor do capilar estão presentes mitocôndrias (M) e lisossomos (L). Em B: Maior aumento do endotélio do capilar mostrando regiões com fenestrações (setas). Aumentos: A: 8900X e B: 28000X

Através dos resultados obtidos pela microscopia eletrônica de transmissão, notamos que a barreira-placentária apresentou-se constituída por três camadas trofoblásticas: T1 – mais externa e próxima as lacunas maternas, TII – intermediária e TIII – mais interna e próxima aos capilares fetais; e pelo endotélio do capilar fetal, que se separa das camadas trofoblásticas através da membrana basal (Figuras 28 A e 29 A). Com isso foi possível classificar a placenta do *Oryzomys* sp. quanto a barreira-placentária como do tipo hemotricorial.

As lacunas maternas ou espaços sanguíneos maternos são abundantes e facilmente identificados na região do labirinto placentário (Figuras 28 A e B). Estas regiões correspondem a canais onde o sangue materno permanece extravasado devido a inexistência de uma parede vascular, sendo esta, uma área onde normalmente se processam as trocas materno-fetais, através da barreira-placentária.

Em contato direto com as lacunas de sangue materno estava presente a camada trofoblástica mais externa (TI), esta camada muitas vezes chegava a englobar parcialmente as células sanguíneas maternas, devido ao íntimo contato existente entre estas duas estruturas (Figuras 28 A e E).

Foi observado no citoplasma da célula endotelial fetal uma grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso (Figuras 28 C e D).

As células da camada trofoblástica II, apresentaram-se dispersas, de modo a tornar a espessura dessa camada bastante variável, com áreas estando reduzidas a uma fina membrana. Estas células apresentaram um único núcleo bem desenvolvido, com nucléolo pouco organizado e áreas de cromatina condensada dispersas pelo núcleo (Figura 28 B). A camada trofoblástica intermediária (TII), também apresentou variações na sua espessura, mas na maioria das amostras analisadas era a camada mais espessa. Já a camada trofoblástica III, apresentou uma relação muito íntima com a membrana basal do endotélio do capilar fetal, onde foram observadas junções entre a área de aposição destas duas membranas (Figura 29 B). Enquanto que a mesma conectava-se à camada trofoblástica intermediária (TII) ora através de junções muito próximas entre as duas membranas, denominadas de junções fechadas, ora através de junções mais distantes entre as duas membranas, denominadas de junções abertas (Figura 29 B).

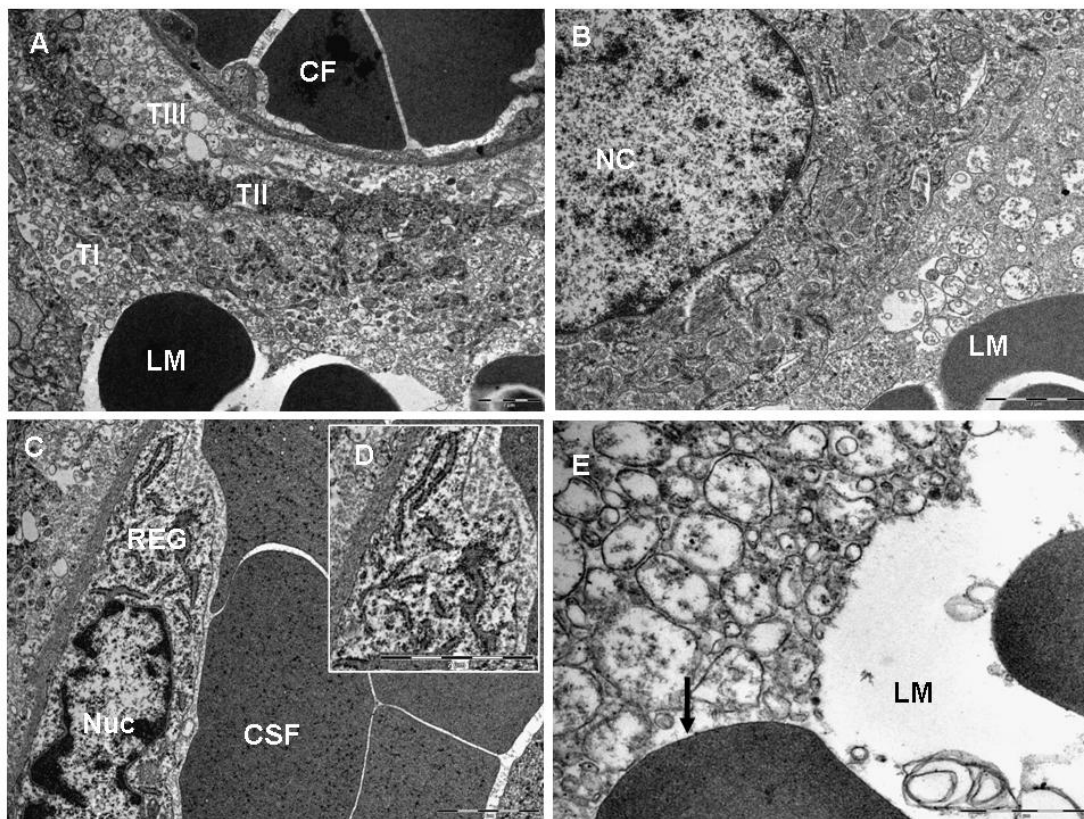


Figura 28 - Eletromicrografia da placenta de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae) na região do labirinto placentário. Observar em A, os elementos que compõe a barreira-placentária. Notar o CF= capilar fetal, LM= lacuna materna e as camadas trofoblásticas: TI, TII e TIII. Em B: núcleo (NC) de uma célula presente na TII, apresentando cromatina dispersa. Em C: Detalhe do núcleo de uma célula endotelial fetal (Nuc) com citoplasma repleto de retículo endoplasmático rugoso (REG), em detalhe na figura D, CFF = célula sanguínea fetal. Observar em E a íntima relação entre a TI e as células sanguíneas maternas (seta), presentes na lacuna materna (LM). Aumentos: A: 5600X, B: 8900X, C e D: 8900X e E: 22000X

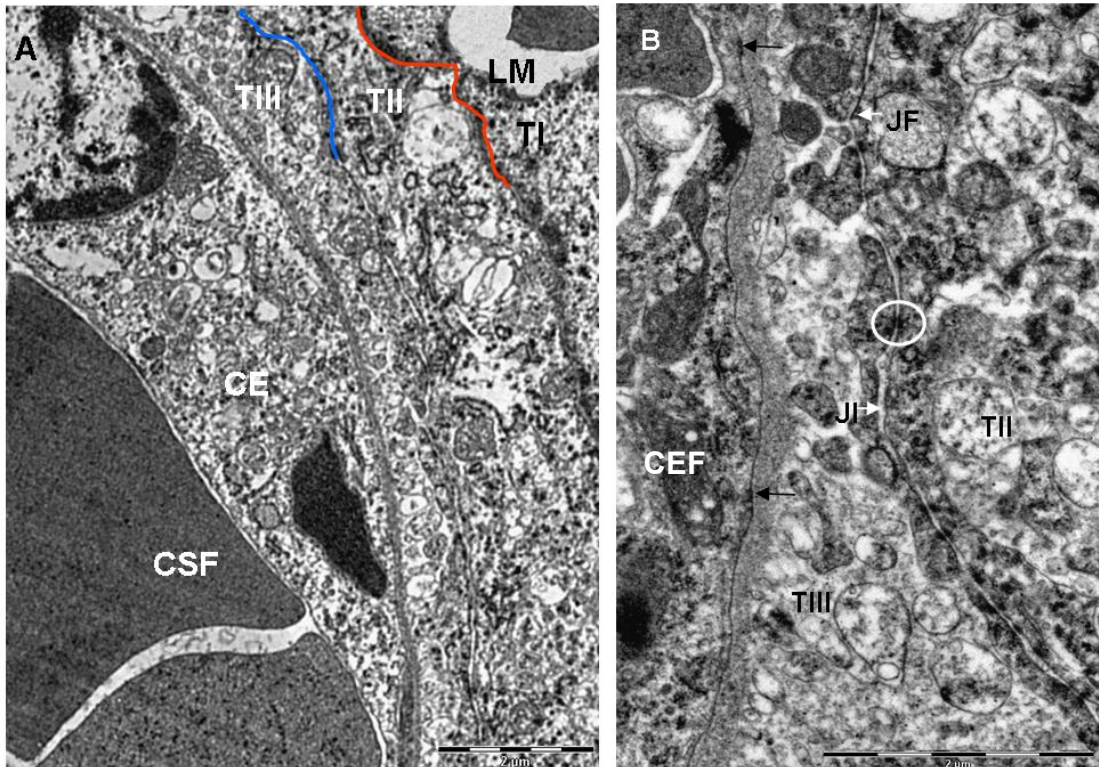


Figura 29 - Eletromicrografia da placenta de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae) na região do labirinto placentário. Em A: notar em destaque as três camadas trofoblásticas (TI, TII e TIII) que se interpõe entre a lacuna de sangue materno (LM) e a célula endotelial fetal (CE); CSF= célula sanguínea fetal. Em B: Detalhe da interface entre as camadas TII, TIII e a célula endotelial fetal (CEF). Observar entre as camadas TII e TIII junções íntimas ou fechadas (CJ) e junções abertas (IJ) além de desmossomos (círculo). E a íntima relação existente entre a camada TIII e a membrana basal do endotélio fetal, onde observam-se algumas junções em destaque (setas). Aumentos: A: 5600X e B: 11000X

É através de nutrientes e gases vindos pela circulação materna que o concepto se mantém, ocorrendo estas trocas principalmente na região do labirinto placentário. Nesta região, foi possível observar e identificar no interior das lacunas de sangue materno além dos eritrócitos maduros ou hemácias, outras células relacionadas com a hemocitopoiese.

Os eosinófilos foram observados em diversas fases de maturação, estas células apresentaram como principais características um núcleo bilobado característico e grânulos grosseiros típicos no citoplasma (Figuras 30 A e B).

Os monócitos por sua vez, possuíam um núcleo ovóide, de formato semelhante a um rim (Figura 30 C). Com o decorrer da maturação estas células se diferenciam em macrófagos teciduais.

Os eritrócitos possuíam cromatina em um núcleo bastante condensado, à medida que a célula amadurece a cromatina torna-se mais condensada e o citoplasma mais denso aos elétrons, devido ao acúmulo de hemoglobina, diferenciando mais tardiamente em hemácias (Figura 30 D).

Além destas células hemopoéticas foram identificadas também células progenitoras ou indiferenciadas, estas células com característica de células-tronco, apresentaram uma alta proporção do núcleo com relação ao citoplasma que é bastante escasso. No citoplasma foram observadas pequenas projeções (Figura 30 E).

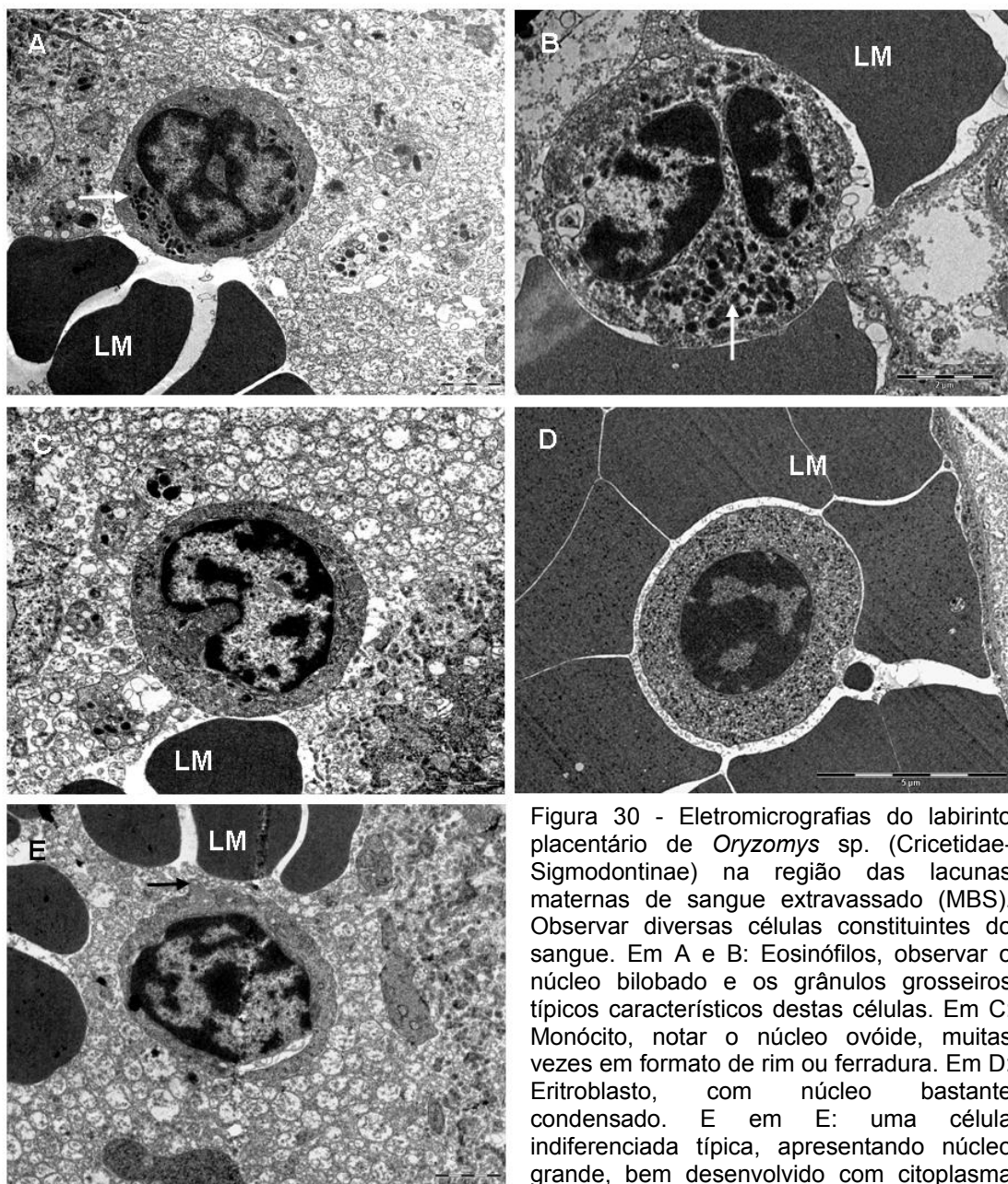


Figura 30 - Eletromicrografias do labirinto placentário de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae) na região das lacunas maternas de sangue extravassado (MBS). Observar diversas células constituintes do sangue. Em A e B: Eosinófilos, observar o núcleo bilobado e os grânulos grosseiros típicos característicos destas células. Em C: Monócito, notar o núcleo ovóide, muitas vezes em formato de rim ou ferradura. Em D: Eritroblasto, com núcleo bastante condensado. E em E: uma célula indiferenciada típica, apresentando núcleo grande, bem desenvolvido com citoplasma escasso e algumas projeções citoplasmáticas (seta). Aumentos: A, B, C e E: 5600X e D: 4400X

Com relação às células da decídua materna, estas se apresentaram intimamente relacionadas umas às outras e caracterizaram-se por apresentar um núcleo grande de formato irregular e nucléolo desenvolvido e esférico (Figura 31 A). Foi possível confirmar a presença de grânulos de glicogênio no citoplasma das células decíduais (Figura 31 B), já previamente observados sob a microscopia de luz, em lâminas coradas pela técnica de P.A.S.

Notou-se que o citoplasma celular era rico em mitocôndrias (Figura 31 C).

A região da decídua é ricamente vascularizada, sendo facilmente notados inúmeros vasos de maior e menor calibre. Entre a matriz extracelular inúmeros capilares estavam presentes (Figura 31 D).

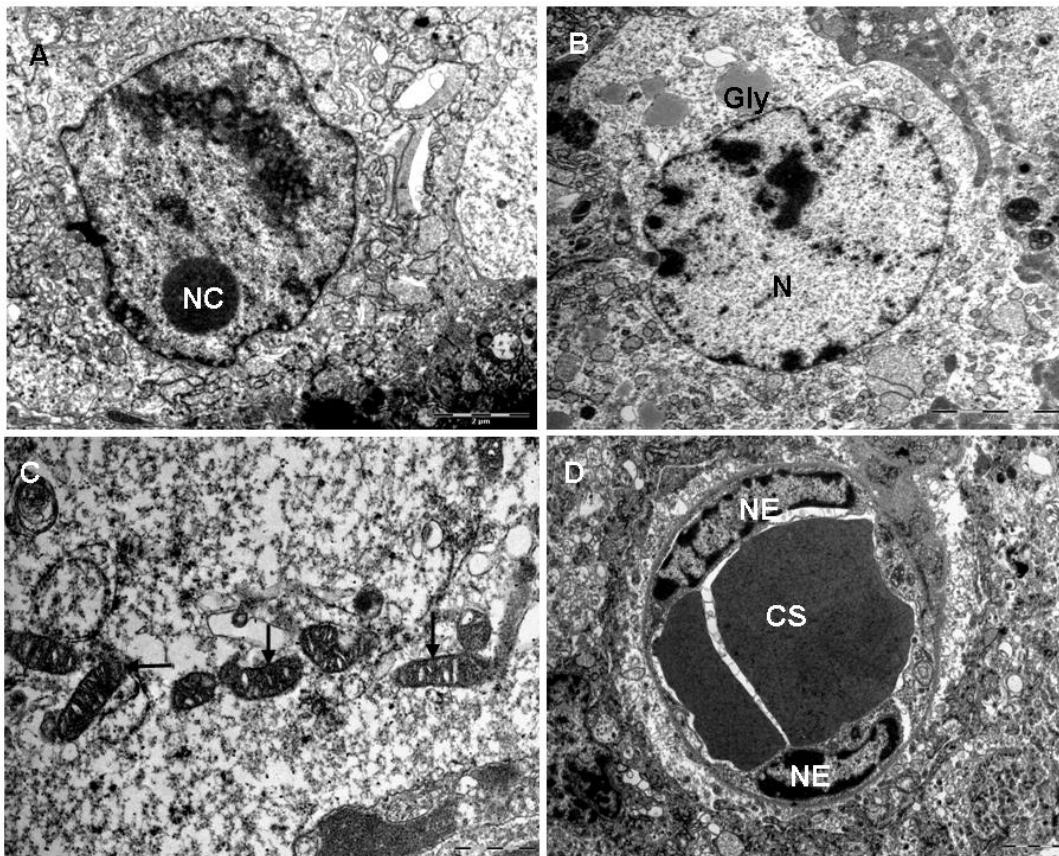


Figura 31 - Eletromicrografia da placenta de *Oryzomys* sp. (Cricetidae-Sigmodontinae) na região da decídua materna. Observar em A: célula decidual típica com núcleo desenvolvido de formato irregular e nucléolo esférico (NC). B: Notar no citoplasma de uma célula decidual grânulos de glicogênio (Gly), N = núcleo. Em C: No citoplasma também foram observadas mitocôndrias em abundância (setas). Em D: Notar um capilar (CS) com duas células endoteliais evidenciadas por seus respectivos núcleos (NE). Aumentos: A e D: 5600X, B:3500X e C:14000X

Necromys lasiurus

A placenta vitelina visceral em *Necromys lasiurus* apresentou-se constituída por células endodérmicas com aspecto viloso, repletas de vilosidades na sua membrana. Estas células mostraram-se distanciadas umas das outras. O núcleo estava situado em uma posição basal, bem próximo ao eixo de mesênquima que confere sustentação a estas células, no qual estão presentes os capilares vitelinos (Figuras 32 A e B).

O citoplasma continha vesículas com característica de vacúolos em abundância. Estes vacúolos muitas vezes se fundiam formando grandes espaços no citoplasma celular. Também foram observadas vesículas eletrodensas de diversos formatos e tamanhos, dispersas por todo o citoplasma supranuclear (Figuras 32 C e D).

As células endodérmicas apresentaram-se ricas em retículo endoplasmático rugoso (Figura 32 D).

No eixo de mesênquima facilmente se observam capilares vitelinos, os quais ao serem observados em maiores aumentos mostram fenestrações na parede endotelial (Figura 33).

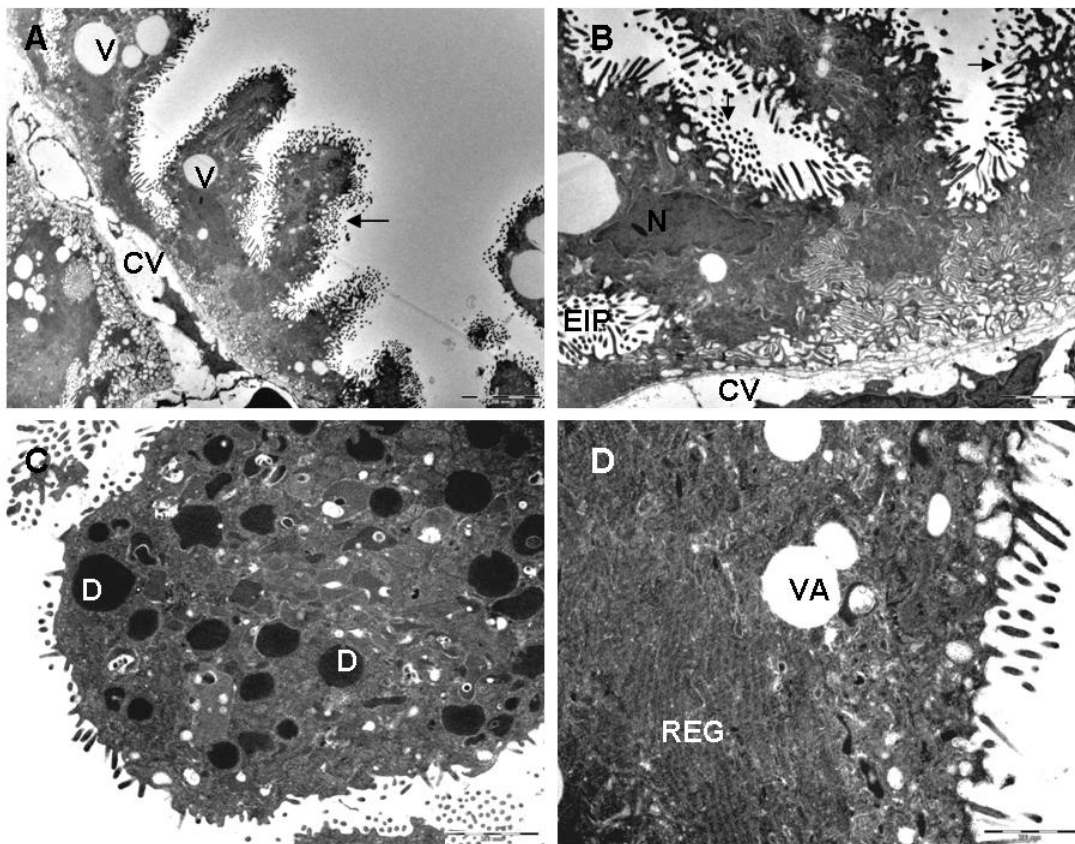


Figura 32 - Eletromicrografia da placenta vitelina visceral de *Necromys lasiurus* (Cricetidae-Sigmodontinae). Imagens evidenciando elementos que compõe o aparato absorptivo da placenta vitelina. Em A: Observar a distribuição das microvilosidades ao longo de toda a membrana apical das células endodérmicas (setas). No citoplasma vacúolos (V) são observados com freqüência. No eixo de mesênquima são observados capilares vitelinos (CV). Em B: Notar a posição basal do núcleo das células endodérmicas (N) e também espaços intercelulares proeminentes (EIP) e um capilar vitelino (CV). Em C: Na região apical das células são observadas vesículas eletrodensas (D). Em D: Notar um processo de fusão de dois vacúolos apicais (VA) e a distribuição do retículo endoplasmático rugoso (REG). Aumentos: A: 3500X, B e C: 5600X e D: 8900X

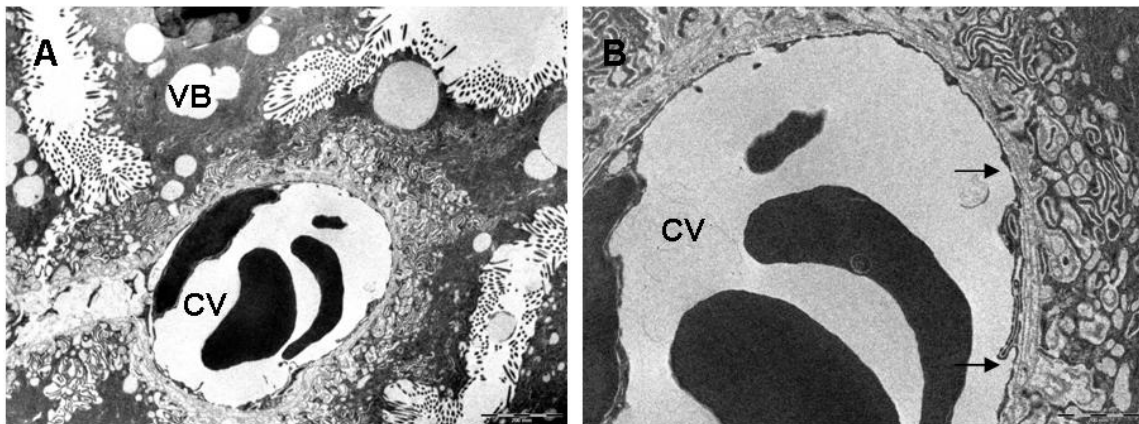


Figura 33 - Eletromicrografia da placenta vitelina visceral de *Necromys lasiurus* (Cricetidae-Sigmodontinae). Em A: Distribuição basal de vacúolos (VB). Notar um capilar vitelino (CV) presente no eixo de mesênquima da placenta vitelina. Em B: Detalhe de um capilar vitelino (CV), onde se evidencia regiões com fenestrações na parede da célula endotelial (setas). Aumentos: A: 3500X e B: 8900X

Foi possível observar na região de labirinto os elementos que compunham a barreira-placentária de *Necromys lasiurus* (Figuras 34 A, B e C), desempenhando o papel de separar os sistemas sanguíneos materno e fetal, evitando-se assim um contato direto entre o sangue contido nas lacunas maternas e no interior dos capilares fetais.

Assim como no *Oryzomys* sp. nesta espécie existem três camadas trofoblásticas separando os dois sistemas sanguíneos, aqui também denominadas de camada trofoblástica I, II e III (Figura 34 C).

A camada trofoblástica I também é a mais próxima as lacunas de sangue materno, esta mostra-se constituída por uma delgada membrana de parede muitas vezes descontínua e de pouca relação com a camada trofoblástica II. Esta segunda camada, intermediária, apresentou-se com aspecto viloso, de projeções digitiformes que pela estrutura descontínua da TI, podiam ser observados em

alguns locais um contato mais íntimo dessa camada trofoblástica com o sangue materno (Figura 34 E).

A camada trofoblástica mais interna (TIII) apresentou-se fortemente relacionada com o capilar fetal, de modo que a lâmina basal da TIII adere-se intimamente com a lâmina basal do endotélio do capilar fetal (Figura 34 C).

A espessura da barreira-placentária observada em uma mesma amostra apresentou variações de acordo com a região analisada.

São observadas mitocôndrias em abundância nas camada trofoblástica III (Figura 34 F).

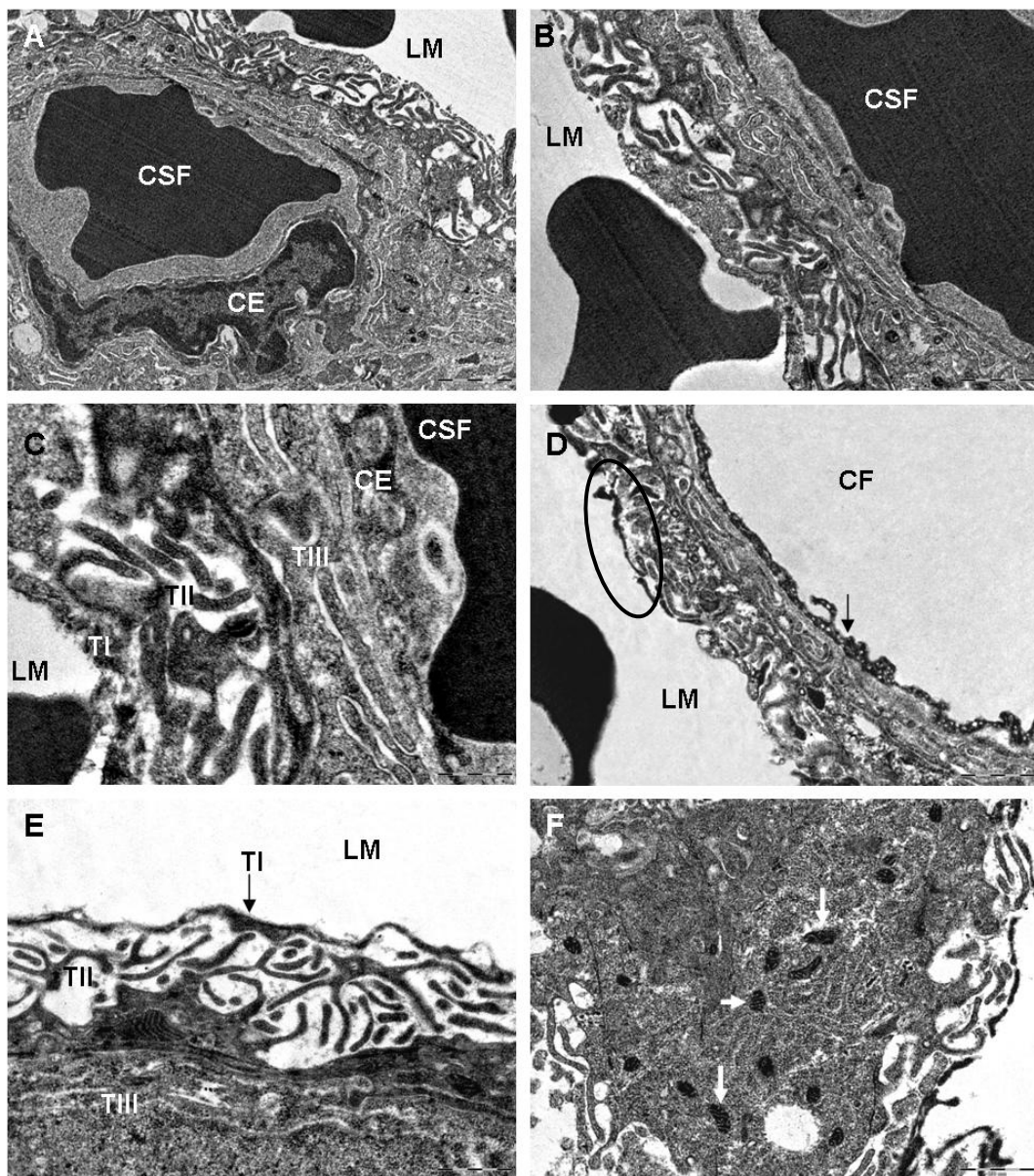


Figura 34 - Eletromicrografia da placenta de *Necromys lasiurus* (Cricetidae-Sigmodontinae) na região do labirinto placentário, evidenciando a barreira-placentária desta espécie, caracterizada na figura A pela presença do capilar fetal, evidenciado pela célula endotelial (CE) e pelas células sanguíneas fetais (CSF) e a lacuna materna (LM). Em B e C: Detalhe da região da barreira-placentária onde podem ser observadas 3 camadas de trofoblásto (TI, TII e TIII) interpostas entre os capilares fetais (CSF) e as lacunas maternas (LM). Em D: Detalhe da parede da célula endotelial fetal (seta), representando a primeira barreira entre o capilar fetal (CF) e a lacuna materna (LM). Notar ainda a descontinuidade da TI (círculo). Em E: Em detalhe podem ser observadas as camadas trofoblásticas. TI, bastante delgada; TII, de característica vilosa e TIII, apresentando os elementos celulares mais compactados. Em F: Notar abundância de mitocôndrias na camada TIII. Aumentos: A: 8900X, B e F: 14000X, C: 36000X, D: 11000X e E: 22000X

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A placentação é um processo fundamental para a manutenção do desenvolvimento e crescimento do feto durante a gestação, de modo que alterações nas diferentes regiões deste órgão, aqui denominado de placenta, resultam na restrição e comprometimento do crescimento fetal, ou se mais severas na morte fetal e conseqüente interrupção de um ciclo reprodutivo.

Segundo Oliveira (2004) evolutivamente, o útero representa a estrutura biológica adequada ao desenvolvimento do embrião e do feto durante toda a gestação dos mamíferos euterianos.

Variações individuais durante o desenvolvimento são, em parte, determinadas pelo genoma fetal, mas também podem ser influenciadas por condições intra-uterinas, as quais para muitas espécies podem estar relacionadas ao tamanho da ninhada, e condições uterinas (sítios uterinos) (DYCE, et al., 1997). Podemos dizer que uma velocidade normal de crescimento presume suprimento adequado de nutrientes e oxigênio. Tal velocidade sofrerá uma queda caso a circulação uterina estiver prejudicada, se houver tecido placentário sadio insuficiente, ou se a mãe estiver gravemente desnutrida.

A placenta apresenta um importante papel nesse contexto, sendo ela constituída por uma associação muito íntima entre tecidos maternos e fetais, que como resultado permitem um intercâmbio adequado de materiais entre ambos os organismos.

Os fetos expostos a qualquer circunstância que os desviem de uma curva de crescimento normal, tal qual a desnutrição por problemas fisiológicos, ou por haver uma transferência inadequada de nutrientes, são geralmente capazes de se recuperar, isso se a exposição não for tão grave e ou prolongada.

Algumas perdas e anormalidades devem-se a defeitos intrínsecos do concepto, ao estado não-receptivo do útero ou em virtude da exposição da mãe a uma variedade de insultos ambientais, como por exemplo, situações de estresse,

principalmente quando se pensa em animais domésticos ou de laboratório, que necessitam em algum momento de manipulação.

As afrontas ambientais, que podem comprometer o desenvolvimento de modo adverso não podem ser amplamente listadas, estas englobam radiação ionizantes, infecções virais, substâncias químicas orgânicas e inorgânicas (DYCE, et al., 1997). Muitos destes agentes são melhor conhecidos a partir de seus efeitos no laboratório, alguns deles são letais e outros mais propensos a produzir anormalidades que permitam a sobrevivência, ainda que às vezes, apenas por um curto período. É mais provável que tais agentes (teratógenos) produzam anormalidades quando a exposição ocorrer durante o período embrionário, momento em que processos muito complexos e criticamente sincronizados estão em andamento, sendo ainda possível dizer que a exposição mais precoce resulta em óbito como mencionado por Moore e Persaud (2004).

Estudos na grande área da reprodução e fisiologia são cada vez mais necessários para o esclarecimento dos eventos que ocorrem ao longo do desenvolvimento embrionário, e os fatores que atuam para que esse desenvolvimento ocorra de forma adequada. Por outro lado, também devem ser considerados os fatores que atuam de forma negativa neste desenvolvimento, ou seja, entender as alterações que podem ocorrer ao longo da placentação e organogênese.

É extremamente importante envolver a análise da placenta no entendimento destes eventos e no estabelecimento de modelos experimentais, dada à diversidade funcional e estrutural deste órgão nas espécies (MOSSMAN, 1987).

Diante dos fatos, devemos levar em consideração que não somente a placenta desempenha importantes funções no estabelecimento, desenvolvimento e manutenção do concepto, como também os outros anexos fetais, como as membranas embrionárias propriamente ditas, que desempenham funções não menos importantes.

Além disso, pesquisadores têm realizado estudos na área de placentação com o objetivo de tentar estabelecer relações filogenéticas entre os anexos fetais

dentro dos grupos distintos de mamíferos principalmente dentro da Ordem Rodentia.

Ao longo das análises macro e microscópicas, pudemos constatar que a placenta nas 5 espécies de roedores da Família Cricetidae e Subfamília Sigmodontinae (*Necomys lasiurus*, *Oligoryzomys* sp., *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys*, sp. e *Oryzomys megacephalus*) abordadas neste projeto, são do tipo corioalantóidea com a placenta vitelina permanecendo até o final da gestação.

A placenta corioalantóidea nos roedores é responsável por promover uma relação hemocorial entre o sangue materno e o fetal. Nos sigmodontes apresentou-se com um formato discóide, sendo classificada segundo Leiser (1994) como tipo zonária discoidal. Este formato discoidal do disco placentário é típico para os roedores e para a placenta do homem, como já foi mencionado por Leiser (1994), Bonatelli, (2001), Rodrigues et al. (2003) e Oliveira (2004).

Comparada com a maioria dos outros mamíferos, a placenta humana é bastante interessante e ao mesmo tempo estranha (CARTER, 2007). Peculiaridades do desenvolvimento de nossas membranas incluem inicialmente uma implantação intersticial, um útero simples, a ausência de uma placentação vitelina e a ocorrência de um pedúnculo alantoideano ao invés de um alantóide em forma de saco. Primatas não humanos partilham muitas destas características, mas na maioria delas a implantação é superficial e a invasão do trofoblasto é mais restrita do que nos seres humanos (CARTER, 2007; MESS et al., 2007). De modo que podemos afirmar que não existe um modelo ideal para se comparar com a placentação do homem.

Em um trabalho de revisão, Carter (2007) menciona que animais de laboratório já bem estabelecidos, como camundongos, ratos e coelhos têm a vantagem de gerar num curto período de tempo grandes ninhadas. Pequenos mamíferos requerem também menores espaços físicos, sendo, portanto, de mais fácil manutenção. A maioria dos grandes animais de laboratório são espécies domesticadas, como as ovelhas que são amplamente utilizadas em estudos sobre a fisiologia fetal. Considerações éticas tendem a aumentar conforme o tamanho do animal, e a legislação se torna mais rigorosa para gatos, cães e animais

ungulados. Sendo estas preocupações éticas ainda maiores para primatas não-humanos. Além disso, sua manutenção é mais onerosa e geralmente estes animais produzem um único filhote por gestação.

Devido às semelhanças existentes entre a placenta dos roedores e a placenta humana (discoidal hemocorial), desde muito tempo atrás, como citado no trabalho de Egund e Carter (1974) os roedores, principalmente o “guinea pig”, a espécie mais estudada dentro do grupo (MESS et al. 2007), vêm sendo utilizados em estudos fisiológicos da função placentária, cujos resultados podem ser extrapolados ao modelo humano (MESS, 2007c; BOSCO; BUFFET, 2008). Além disso, os trabalhos hoje desenvolvidos na área da morfologia da placenta, tem não somente sua importância na descrição anatômica do órgão, como também passam a ser relevantes do ponto de vista ecológico, ou seja, para se conhecer melhor a biologia reprodutiva da espécie, além de, no caso dos roedores, haver uma busca por novas espécies que possam ser utilizadas como modelos experimentais.

No entanto, devemos lembrar que há uma importante limitação comparativa com relação às intergitações materno-fetais, entre os dois modelos de placenta, como observado por Kaufmann (1981), enquanto a placenta humana é vilosa e exibe um sistema de fluxo multiviloso, a placenta da cobaia (o modelo mais próximo ao da placenta humana) é labiríntica e apresenta um sistema de fluxo contra-corrente.

Com relação à placenta vitelina que se forma no início da gestação, sendo esta tida como a placenta funcional em roedores antes da formação da placenta corioalantóidea, notamos que entre as espécies de sigmodontes aqui estudadas esta estrutura reveste a face fetal do disco da placenta corioalantóidea, sendo uma característica condizente com as descrições realizadas por King (1971) em seu estudo sobre a diferenciação das células endodérmicas parietais na placenta vitelina do “guinea pig”.

Não observamos grandes variações na morfologia da placenta vitelina nas espécies de sigmodontes estudado, no entanto, foi possível observar uma variação na posição dos núcleos das células endodérmicas no gênero

Oligoryzomys sp., os quais situavam-se numa posição apical da célula, ao contrário das outras espécies (*Necomys lasiurus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys*, sp. e *Oryzomys megacephalus*) em que foi possível perceber que o núcleo destas células tendiam a manter-se numa posição basal, próximo ao eixo de mesênquima que confere sustentação as vilosidades da placenta vitelina, dados estes obtidos através da microscopia de luz. Segundo Oliveira (2004) no mocó as células endodérmicas da placenta vitelina apresentam núcleos dispostos na região basal e quando analisadas por meio da microscopia eletrônica de transmissão, observa-se que estas possuem um único nucléolo, na maioria das vezes pouco organizado.

Nas espécies *Necomys lasiurus* e *Oryzomys* sp. pudemos confirmar a posição basal do núcleo das células endodérmicas da placenta vitelina sob a microscopia eletrônica de transmissão.

Já com relação ao “guinea pig”, a placenta vitelina revela um complexo de dobras e vilos na região próxima ao disco placentário. Segundo King e Enders (1970) pode-se notar que os núcleos das células endodérmicas situavam-se na porção basal da célula. Na paca, uma outra espécie de histicomorfo, os núcleos foram observados na região apical da célula (BONATELLI, 2001), semelhante ao gênero *Oligoryzomys* sp..

No gênero *Oligoryzomys* sp. notamos que a placenta vitelina reveste não somente a parte da placenta corioalantóidea que está em contato com o feto, ou seja, a face fetal, bem como todo o restante do disco placentário. Esta característica apenas foi observada nesta espécie.

Foi possível observar que somente a espécie *Oryzomys subflavus* apresentou as células endodérmicas da placenta vitelina positivas ao PAS. No interior destas células foi possível observar uma grande quantidade de grânulos PAS – positivos, indicativos de armazenamento de glicoproteínas. Porém sob a microscopia eletrônica de transmissão foram observados também grânulos de glicogênio na placenta vitelina do *Oryzomys* sp. bem como nas células deciduais da mesma.

Ainda com relação à placenta vitelina de *Oryzomys subflavus*, esta ao ser observada sob a coloração de Tricrômio de Masson mostrou inúmeras gotículas de secreção evidenciando uma atividade hemofágica intensa das células endodérmicas. As regiões hemofágicas podem ser consideradas regiões fagocíticas que se formam numa região cuja função é a ingestão e quebra eritrocitária.

Vários autores sugeriram que essas áreas hemofágicas possuem a importante função de transferência de ferro da mãe para o feto (WIMSATT, 1950; MURAI; YAMAUCHI, 1986; LATSHAW, 1987; MOSSMAN, 1987; CAZERTA et al., 2007).

A placenta vitelina desempenha importantes funções no desenvolvimento do embrião/feto, antes e depois da formação da placenta principal (corioalantóidea). Como mencionado por King e Enders (1970) a passagem de nutrientes do organismo materno para o feto é mediada pela placenta, representando um veículo de trocas (GRAY et al., 2001), e desde muito tempo atrás, essa propriedade vem sendo investigada, tendo ainda muitos fatores a serem esclarecidos.

A fonte de nutrientes pode ser hemotrófica, ou seja, diretamente dos capilares maternos, ou histiotrófica, cuja nutrição ocorre a partir de secreções das glândulas uterinas ricas em enzimas, citocinas, fatores de crescimento, moléculas de adesão e íons, tais como o ferro, hormônios, glicose e proteínas de transporte (GRAY et al., 2001; CAZERTA et al., 2007). Claro que uma nutrição histiotrófica é de maior importância durante a gestação para aquelas espécies que possuem uma placentação não-invasiva, como os ruminantes (MARQUES, et al. 2007). Na literatura consultada, os autores acreditam que o feto utiliza o ferro extravasado para sua própria hematopoiese. Vários estudos têm sido realizados, visando esclarecer este mecanismo da passagem de ferro da mãe para o feto. Diversos autores têm demonstrado que a deficiência de ferro, durante a gestação em humanos e animais, resulta em problemas em longo prazo no recém nascido, como, por exemplo, aumento da pressão sanguínea, diminuição na função

cerebral e comprometimento do desenvolvimento do sistema imune (McARDLE, et al., 2003).

Em muitas espécies de roedores, em especial no “guinea pig” (*Cavia porcella*), as análises do transporte materno-fetal são extremamente complexas (KING; ENDERS, 1970). Um dos fatores que contribuem para esta complexidade é a existência concomitante dos dois tipos de placentas, a placenta vitelina e a placenta corioalantóidea que se estabelece mais tardiamente durante a gestação (KAUFMANN, 1981; MESS, 2007a). A presença concomitante da placenta vitelina e da placenta corioalantóidea foi observada nas cinco espécies de roedores da Subfamília Sigmodontinae estudados neste projeto, estando de acordo com dados dos autores citados anteriormente.

Através da microscopia eletrônica de transmissão notamos que as células endodérmicas da placenta vitelina das espécies *Necomys lasiurus* e *Oryzomys* sp. possuem um típico aparato absorptivo, contendo inúmeras invaginações saculares, vacúolos apicais e basais, vesículas eletrodensas, além de inúmeras microvilosidades.

Brambell (1958) relata que outra importante função da placenta vitelina está relacionada com a mediação da transferência de imunidade passiva da mãe para o feto, através da circulação da placenta vitelina. Além de contribuir para a transmissão de anticorpos para o feto, esta capacidade de mediar a transferência de inúmeras substâncias também foi referida em estudos de Mess (2007a) desenvolvidos com a espécie “guinea pig”.

Outro ponto relevante para o desenvolvimento do embrião é quanto a eficiência do processo de vascularização. Miglino et al. (2004) estudou a organização vascular da placenta de 5 espécies de roedores histricomorfos (cutia, capivara, “guinea pig”, paca e mocó). Constatou que o útero é bicórneo e cada corno é suprido por uma artéria arqueada, oriunda de ramificações das artérias uterina e ovárica. A placenta é dividida em lobos que são separados por um trofoblasto interlobular, enquanto que a subplacenta é suprida por uma única artéria fetal. Nos roedores sigmodontes aqui estudados, que na taxonomia pertencem a Subordem Miomorfa, o útero também apresentou-se do tipo bicórneo,

morfologia comum para os roedores, porém não foi observada essa divisão em lobos da placenta, bem como também não há uma região de subplacenta, características comuns aos roedores da Subordem Histricomorfa.

A região de labirinto é a região placentária de maior contato entre os tecidos de origem fetal e materna. O componente materno presente nesta região é representado tão somente pelo sangue materno extravasado que flui através das lacunas tubulares. Estas lacunas são delimitadas por células trofoblásticas e o conjunto delas assume um aspecto colunar. Em contato com estas colunas estão presentes capilares fetais dispostos em um arranjo paralelo às lacunas maternas de sangue extravasado, conferindo um aspecto radial ao arranjo do tecido como um todo nesta região. Esse arranjo radial desta região também foi observado na placenta de mocós (OLIVEIRA, 2004) e da paca (BONATELLI, 2001). Segundo Kanashiro (2006), na capivara essa radiação das lacunas e capilares fetais é observada somente em alguns pontos e a partir de vasos maiores posicionados no centro dos lóbulos placentários.

As células trofoblásticas desta região apresentam núcleos grandes, globosos e muitas vezes ovóides, com cromatina em grânulos, embora de morfologia variável, evidente sob a microscopia de luz. Frequentemente são observados muitos destes núcleos próximos uns dos outros, o que indica que o núcleo destas células deve pertencer a uma estrutura de natureza sincicial.

Essa característica sincicial é mencionada por Junqueira e Carneiro (2004) onde os autores relatam que regiões de sinciciotrofoblasto na placenta humana são observadas mais externamente, com núcleos volumosos e citoplasma contínuo, conferindo a esta área uma característica sincicial. Estas mesmas observações foram descritas na região de labirinto placentário dos roedores sigmodontes, entre os capilares sanguíneos do feto e as lacunas de sangue materno extravasado. Estes dados também foram visualizados na placenta de mocos, *Kerodon rupestris*, segundo estudos desenvolvidos por Oliveira (2004).

Diferentemente da região de sinciciotrofoblasto, o citotrofoblasto é constituído por sua vez, de uma camada irregular de células ovóides e mononucleares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004), estas características foram

observadas na placenta dos sigmodontes na região de sincício marginal, ou seja, na região de labirinto placentário mais periférica do disco placentário, onde se observa uma grande quantidade de lacunas de sangue materno.

As células endoteliais dos capilares fetais na região do labirinto da placenta apresentam núcleos de perfil alongado que raramente são observados em cortes para microscopia de luz, o que indica que estas células endoteliais devem ter uma grande superfície. Conseguimos através de cortes seqüenciais evidenciar estes núcleos como demonstrado em nossos resultados.

Como foi proposto por Enders (1965) as placentas do tipo corioalantóidea hemocorial freqüentemente são classificadas de acordo com o número de camadas de tecido que separam e se interpõe entre o sistema vascular fetal e o materno. Há três principais modelos de barreira placentária, ou tecidos de interdigitação materno-fetais, o tipo hemomonocorial, hemodicorial e hemotricorial (LEISER; KAUFMANN, 1994). Os Glires, (clado Gliriformes) representam um clado de mamíferos placentários que formam a Superordem Euarchontoglires, na qual estão incluídos os roedores, lagomorfos e uma série de grupos afins, estes apresentam uma placenta com formato discoidal ou esférica, com área de troca labiríntica e hemocorial, onde há uma região de espongiotrofoblasto bem desenvolvida. Neste importante grupo, podemos identificar os três modelos de interdigitação materno-fetais proposto por Leiser e Kaufmann (1994) como discutido por Carter e Enders (2004).

Em nosso material somente pudemos aplicar a técnica de microscopia eletrônica de transmissão em duas das cinco espécies utilizadas neste projeto, *Necromys lasiurus* e *Oryzomys* sp. A aplicação desta técnica não estava no projeto inicial por que sabíamos que o material a ser utilizado neste projeto seria oriundo de uma coleção de museu, e, portanto não havia sido fixado de forma adequada para aplicação da mesma, no entanto, aplicamos a técnica nas placentas coletas, confiantes de que conseguiríamos obter imagens que nos permitiriam esclarecer dúvidas existentes a respeito da placentação nestas espécies.

Tanto em *Necromys lasiurus* quanto em *Oryzomys* sp. como demonstrado em nossos resultados existem 3 camadas de tecido trofoblástico (TI, TII e TIII) separando a circulação fetal da circulação materna, além do endotélio do capilar fetal.

Nossos resultados estão de acordo com os aqueles citados no trabalho realizado por King e Hastings (1977), no qual os autores mostram que nas espécies dos gêneros *Lemmus*, *Dicrostonyx*, *Clethrionomys*, *Microtus* e *Peromyscus*, que também pertencem a Família Cricetidae, a barreira placentária é do tipo hemotricorial. E como demonstrado também por Limongi e Ferro (2003) para a espécie *Calomys callosus*, da mesma família. Nesta espécie foram observadas três camadas de células trofoblásticas chamadas de camada I, II e III, além do endotélio fetal propriamente dito, assim como também foi descrito no golden hamster (*Cricetus auratus*) segundo Carpenter (1972, 1975).

Outras espécies de roedores tais como o “guinea pig” (*Cavia porcella*) possuem apenas uma única camada de tecido funcionando como barreira de separação entre as circulações materna e fetal, sendo, portanto, esta classificada como tipo hemomonocorial (KAUFMANN, 1981; MESS, 2007a), assim como a placenta da capivara (SOIRON, 1993) e da própria placenta humana que também tem seus vilos classificados como do tipo hemomonocorial (ENDERS, 1965; TAKATA, 1997).

Notamos através da microscopia eletrônica de transmissão que a camada trofoblástica I era a mais fina e delgada das três camadas trofoblásticas existentes na barreira-placentária das espécies *Necromys lasiurus* e *Oryzomys* sp. A camada trofoblástica I apresentou ao longo de sua extensão áreas descontínuas, ou seja, com regiões apresentando fenestrações, isso nos faz inferir sobre a sua frágil função como barreira, provavelmente atuando como uma camada relacionada a absorção. Essas fenestrações como demonstrado em nossos resultados permitem que ocorra em determinadas regiões, o contato entre os elementos que compõe o sangue materno com o espaço existente entre as camadas trofoblásticas I e II. Observações muito semelhantes foram realizadas por Limongi e Ferro (2003) ao estudarem a barreira-placentária de *Calomys callosus*.

Takata et al. (1997) para fortalecer observações semelhantes na placenta do rato de laboratório, menciona que quando marcadores celulares são administrados via compartimento materno da placenta, estes rapidamente penetram na camada trofoblástica I e se difundem para o espaço existente entre a camada trofoblástica I e II, mas não passam através da camada II, onde esta camada bloqueia efetivamente estas substâncias.

A relação da camada trofoblástica II com a III é muito mais efetiva. Pudemos observar diferentes tipos de ligações entre estas duas camadas, como: desmossomos, junções fechadas e abertas também denominadas de intermediárias, chamadas na literatura de "close junctions" e "intermediate junctions" respectivamente, segundo o trabalho de Carpenter (1975). Uma relação ainda mais íntima foi observada entre a lâmina basal da camada trofoblástica III e a lâmina basal do capilar fetal.

Segundo proposto por King (1982) a condição labiríntica e hemomonocorial da placenta é uma característica de roedores caviomorfos (KAUFMANN, 1981; MOSSMAN, 1987; DANTZER et al., 1988; MESS, 2007b; BOSCO; BUFFET, 2008), o que corresponderia certamente a um carácter filogenético de grupo. Carter (2001) sugere que filogeneticamente a barreira-placentária evoluiu de um modelo mais complexo (hemotricorial) com três camadas de tecido separando a circulação materna e fetal, para um modelo mais simples com apenas uma camada de tecido fazendo essa divisão (hemomonocorial), passando antes por um modelo hemodicorial presente em algumas espécies, como no caso dos Lagomorfos (ENDERS et al., 1998).

Através da aplicação da técnica de reação histoquímica com ácido periódico de Schiff (P.A.S.), constatamos que nas 5 espécies estudadas a região de decídua materna foi positiva ao P.A.S. apresentando grânulos de depósito de glicoproteínas no interior de células trofoblásticas com citoplasma de aspecto semelhante a vacúolos.

As células glicogênicas primeiro surgem na camada de espongiotrofoblasto e subsequentemente migram para a região da decídua, local onde facilmente às observamos sob a microscopia de luz em lâminas submetidas a reação

histoquímica com PAS. Ainda hoje pouco se sabe sobre os reguladores moleculares de formação e função destas células trofoblásticas, como mencionado por Simmons e Cross (2005) em seu trabalho sobre os determinantes que atuam sobre as linhagens e subtipos de células trofoblásticas na placenta do camundongo.

Estas células decíduais de deposição de glicogênio na forma de glicoproteínas são facilmente observadas sob a microscopia de luz convencional. Como demonstrado por Coan et al. (2006) estas células trofoblásticas localizadas na região juncional da placenta, são criticamente importantes para a sobrevivência do feto. Este dado a cerca da origem destas células esta apoiado em bases moleculares e imunohistoquímicos, onde segundo Coan et al. (2006) as mesmas expressam, um gene específico para espongiotrofoblasto, denominado de 4311. Nós sugerimos que a decídua nos roedores sigmodontes funciona como um importante reservatório energético para o conceito, dado a importância do glicogênio como fonte de liberação energética imediata ao feto.

Placentas em estágios iniciais de gestação em ambas as espécies de sigmodontes aqui estudadas, mostraram as células da zona de espongiotrofoblasto relativamente desorganizadas quando comparadas com a mesma região de placentas em estágios mais avançados da gestação. Em placentas de estágios médio e a termo, sabe-se que a zona de espongiotrofoblasto organiza-se de modo a formar faixas contínuas de células com aspecto muitas vezes lobulado (HEMBERGER, 2007). Tais características puderam ser confirmadas para os mesmos estágios nas espécies estudadas.

A função da camada de espongiotrofoblasto (ou zona juncional) é pobremente conhecida. Entretanto, como sugerem Simmons e Cross (2005), essa camada pode atuar dando suporte estrutural para o desenvolvimento de estruturas vilosas na região de labirinto, que por sua vez, apresenta um íntimo contato com essa camada.

Uma característica bastante interessante na placenta das espécies de sigmodontes abordadas neste estudo foi quanto ao arranjo que algumas populações de células gigantes apresentaram nas margens laterais da placenta

corioalantóidea (evidente em cortes longitudinais da placenta). Este arranjo, de acordo com a bibliografia consultada até o momento, não foi descrito ainda em outras espécies de roedores.

As células trofoblásticas gigantes, como mencionado por Hemberger (2007), são o primeiro tipo celular definitivo a se diferenciar após a fertilização, emergindo da camada de trofoectoderma do blastocisto durante o período de pré-implantação (SIMMONS; CROSS, 2005). De modo que o desenvolvimento extraembrionário em roedores depende da diferenciação e funcionamento destas células trofoblásticas gigantes.

Na placenta dos roedores sigmodontes observamos estas células gigantes dispostas numa faixa contínua entre a zona de espongiotrofoblasto e a borda da decídua materna. Esta localização foi descrita no trabalho de Hemberger (2007) em placentas de roedores murinos. São mencionadas ainda pelo autor as importantes funções que estas células desempenham, como as características invasiva, angiogênica, atuação na remodelação arterial, transferência de nutrientes, síntese de hormônios, vasodilatadoras, fagocitárias, além de apresentarem atividade imune.

Como também descrito por Bevilacqua e Abrahamsohn (1988) as células trofoblásticas gigantes desempenham um importante papel no processo de invasão do endométrio uterino, sendo as primeiras células embrionárias a estabelecer um contato com as células maternas.

Os roedores contribuem com um valor inestimável para a ciência como modelos experimentais, desde muito tempo, através do qual muitos medicamentos e tratamentos foram desenvolvidos. Estes animais são utilizados como modelos knock-out na ciência, com a finalidade de haver a compreensão de muitos processos fisiológicos, e que possam ao final, ser comparados com o modelo humano.

Análises sorológicas indicam que as espécies de roedores da Subfamília Sigmodontinae são reservatórios de hantavírus em diversas regiões do Brasil (São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina), e em outros locais onde este grupo ocorre como o México e outros países da América do Sul e

do Norte (JANSA; WEKSLER, 2004). Devido a fatores como desmatamento e queimadas, tem havido uma maior proximidade do homem com estes animais, o que aumenta as chances de contaminação e disseminação destas doenças.

Pouco se sabe a cerca da biologia da maioria das espécies desse grupo. Os sigmodontes são espécies vulneráveis à perda do habitat e devido ao fato de muitas espécies apresentarem certo endemismo estes podem ser considerados importantes bioindicadores, ao mesmo tempo em que há pouco conhecimento de sua abundância.

Assim, estes animais são e podem ser amplamente utilizados para diferentes fins, se por um lado são considerados pragas em muitos países, e estão relacionados com a transmissão de muitas doenças, por outro podem ser utilizados como importantes modelos experimentais na medicina. Portanto, através deste trabalho contribuimos para o entendimento de aspectos relacionados à biologia reprodutiva destas espécies, a fim de elucidar características relacionadas a sua reprodução e que possam ser utilizadas para manutenção destas espécies em cativeiro, bem como para o controle das mesmas.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos ao longo desta pesquisa, julgamos poder concluir que:

- 1- A placenta nas 5 espécies de roedores da Família Cricetidae-Sigmodontinae (*Necromys lasiurus*, *Oryzomys megacephalus*, *Oryzomys subflavus*, *Oryzomys* sp. e *Oligoryzomys* sp.) apresentou-se em todas as fases do período gestacional analisadas com formato discóide, sendo classificada como zonária discoidal.
- 2- Ao longo de sua extensão foi observado uma intensa vascularização, estes vasos oriundos da artéria ovárica circundavam a placenta emitindo ramificações que muitas vezes se imbricavam para o interior do órgão.
- 3- À microscopia de luz, a placenta mostrou-se labiríntica e hemocorial, com uma placenta vitelina completamente invertida que persiste até o final da gestação.
- 4- A espécie *Oryzomys subflavus* apresentou áreas hemofágicas nas células endodérmicas da placenta vitelina, além das mesmas terem sido positivas ao P.A.S..
- 5- Em cortes longitudinais do disco placentário, são observados nas margens laterais aglomerados de células trofoblásticas gigantes, formando uma faixa contínua entre a região de espongiotrofoblasto e a região da decídua.

- 6- Em todas as cinco espécies a decídua foi positiva a reação histoquímica com P.A.S., sugerindo ser esta uma importante região de deposição de glicoproteínas para liberação imediata ao concepto.
- 7- Por meio da microscopia eletrônica de transmissão pudemos confirmar que nas espécies *Necomys lasiurus* e *Oryzomys* sp., a placenta é do subtipo hemotricorial, existindo três camadas de tecido trofoblástico e o endotélio do capilar fetal interpostos entre os sistemas sanguíneos materno e fetal.
- 8- A placenta vitelina nas espécies *Necomys lasiurus* e *Oryzomys* sp. apresentou-se repleta de microvilosidades na sua membrana, com áreas de deposição de glicogênio, sendo os capilares vitelinos do tipo fenestrado.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. M. B.; MIGLINO, M. A.; MORAIS-PINTO, L. Morfologia do funículo umbilical em ovinos deslanados mestiços (*Ovis aries*, Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 3, 2000.
- ANSELL, J. D.; BARLOW, P. W.; MCLAREN, A. Binucleate and polyploidy cell in the decidua of the mouse. **Journal Embryology Experimental Morphology**, v. 31, n. 1, p. 223- 227, 1974.
- BEVILACQUA, E. M. A. F.; ABRAHAMSOHN, P. A. Ultrastructure of Trophoblast giant cell transformation during the Invasive Stage of Implantation of the Mouse Embryo. **Journal of Morphology**, v. 198, p. 341-351, 1988.
- BJÖRKMAN, N.; DANTZER, V.; LEISER, R. Comparative placentation in laboratory animals-a review. **Scandinavian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 4, p.129-158, 1989.
- BONATELLI, M. **Análise morfológica da placenta da paca (*Agouti paca*, L. 1766). Estudo microscópico de luz e microscopia eletrônica de transmissão.** 2001. 68 f. Dissertação (Mestrado Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos.** Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS, 2008. 120 p.
- BOSCO, C.; BUFFET, C. Immunohistochemical Identification of the Extravillous Trophoblast During the Placentation of the Degu (*Octodon degus*). **Journal of Experimental Zoology**, v. 310, p. 534-539, 2008.
- BOSCO, C. B.; DIAZ, S. V.; BOROX, J. P. Sinciotrofoblasto em placenta de termino de *Octodon degus*. Estudio ultramicroscópico de transmission y barrido. **Revista Chilena Obstetrícia e Ginecologia**. v. 62, n. 4, p. 149-256, 1997.
- BRAMBELL, F. W. R. The passive immunity of the young mammal. **Biological Reviews**, v. 33, p. 488-531. 1958.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle de roedores**. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2002. 132 p.

CADEMARTORI, C. V.; FABIÁN, M. E.; MENEGUETI, J. O. Biología Reprodutiva de *Delomys dorsalis* (Hensel, 1872) – Rodentia, Sigmodontinae – em área de floresta ombrófila mista, Rio Grande do Sul, Brasil. **Journal of Neotropical Mammalogy**, v. 12, n. 2, p. 133-144, 2005.

CADEMARTORI, C. V.; FABIÁN, M. E.; MENEGUETI, J. O. Variações na abundância de roedores (Rodentia, Sigmodoninae) em duas áreas de floresta ombrófila mista, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zociências**, v. 6, n. 2, p. 147-167, 2004.

CARPENTER, S. J. Light and electron microscopic observations on the morphogenesis of the chorioallantoic placenta of the golden hamster (*Cricetus auratus*). Days Seven through Nine of Gestation. **American Journal of Anatomy**, v. 135, p. 445-476, 1972.

CARPENTER, S. J. Ultrastructural observations on the maturation of the placental labyrinth of the golden hamster (Days 10 to 16 of Gestation). **American Journal of Anatomy**, v.143, p. 315-348, 1975.

CARTER, A. M. Animal models of human placentation – A review. **Placenta**, v. 21, p. 41-47, 2007.

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

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

CARTER, A. M.; ENDERS, A. C.; KÜNZLE, H.; ODUOR-OKELO, D.; VOGEL, P. Placentation in species of phylogenetic importance: the Afrotheria. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83. p. 35-48, 2004.

CAZERTA, S. M. M.; MIGLINO, M. A.; MARQUES, R. S.; VULCANO, M.; PEREIRA, F. T. V. Caracterização das áreas hemófagas da placenta bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 229-235. 2007.

COAN, P. M.; CONROY, N.; BURTON, G. J.; FERGUSON-SMITH, A. C. Origin and Characteristics of Glycogen Cells in the Developing Murine Placenta. **Developmental Dynamics**, n. 235, p. 3280-3294, 2006.

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

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

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

EGUND, N.; CARTER, A. M. Uterine and placental circulation in the guinea-pig: an angiographic study. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 40, p. 401-410, 1974.

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

ENDERS, A. C.; BLANKENSHIP, T. N.; LANTZ, K. C.; ENDERS, S. S. Morphological variation in the interhemal areas of chorioallantoic placentae – A Review. **Trophoblast Research**, v.12, n. 1, p. 1-19, 1998.

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

FERRAZ, R. H. S. **Estudo macro e microscópio da placenta de termo de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris* – CARLETON, M. D. 1984)**. 2001. 75 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

FERREIRA, G. J. B. C.; OLIVEIRA, M. F.; CARVALHO, A. F.; MIGLINO, M. A.; AMBROSIO, C. E.; MARTINS, D. S.; MARTINS, J. F. P. Morfologia da placenta do ratão do banhado (*Myocastor coypus* Molina, 1782). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 2, p. 107-109, 2002.

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

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

FRANCIOLLI, A. L. R. **Desenvolvimento embriológico e fetal em pacas (*Agouti paca*, Linnaeus 1766): estabelecimento de modelo experimental análogo murino para detecção de linhagens “Germ Cells”**. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

GRAY, C. A.; BARTOL, F. F.; TARLETON, B. J.; WILEY, A. A.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Developmental biology of uterine glands. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 1311-1323, 2001.

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

HAMELETT, W. C.; RASWEILER IV, J. J. Comparative gestation and placentation in vertebrates. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 266, p. 343-346, 1993.

HEMBERGER, M. Characteristics and Significance of Trophoblast Giant Cells. **Placenta**, v.29, p. 4-9, 2007. Suplemento 1.

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

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

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria**. 4. ed. Zurich, 1994 (Together with nomina histological, 2. ed., 1992 and nomina embriologica veterinaria, 1992).

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY HISTOLOGICAL NOMENCLATURA. **Nomina histological**. 2. ed. Revista Zurich, 1994. (Together with nomina anatomica veterinaria).

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

JANSA, S. A.; WEKSLER, M. Phylogeny of muroid rodents: relationships within and among major lineages as determined by IRBP gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, p. 256-276, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. V.; BIGNONAS, G.; BRETAN, R. P. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in the tissue sections. **Histochem Journal**, v. 11, n. 4, p. 447-455, 1979.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 448 p.

KANASHIRO, C. **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.

KAUFMANN, P. Electron microscopy of the guinea-pig placental membranes. **Placenta**, p. 3-10. 1981. (Suplemento)

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

KING, B. F. Comparative anatomy of the placental barrier. **Bibliotheca Anatomica**, v. 22, n. 1, p. 13-28, 1982.

KING, B. F. Differentiation of parietal endoderm cells of the "guinea pig" yolk sac, with particular reference to the development of endoplasmic reticulum. **Developmental Biology**, v. 26, p. 547-559, 1971.

KING, B. F.; ENDERS, A. C. The Fine structure of the "guinea pig" Visceral Yolk Sac Placenta. **American Journal Anatomy**, v. 127, n. 4, p. 397-414, 1970.

KING, B. F.; HASTINGS, R. A. The comparative fine structure of the interhemal membrane of chorioallantoic placentas from six genera of myomorph rodents. **American Journal Anatomy**, n. 149, p. 165-180, 1977.

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

LATSHAW, W. K. **Veterinary Developmental Anatomy: a clinically oriented approach**, Toronto, Canadá: B. C. Becker, 283p. 1987.

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

LILLIE, R. D.; FULMER, H. M. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 4. ed. Estados Unidos: Copyright, 1976.

LIMONGI, J. E.; FERRO, E. A. V. Barreira Placentária de *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). **Bioscience Journal**, v. 19, n. 3, p. 89-94, 2003.

MACHADO, M. R. F.; MIGLINO, M. A.; NEVES, W. C.; BEVILAQUA, E. M. As membranas fetais da paca (*Cuniculus paca*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, 17, 1996, Fortaleza. **Anais...** Ceará: Sociedade Brasileira de Anatomia, 1996. p. 89.

MANDARIN-DE-LACERDA, C. A. **Manual de quantificação morfológica: morfometria, alometria, estereologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: CEBIO, 1994. p. 5-7.

MARQUES, R. S.; VULCANO, M.; CAZERTA, S. M. M.; MIGLINO, M. A.; ASSIS NETO, A. C.; PEREIRA, F. T. V. Caracterização morfológica da região intercaruncular uterina de vacas e búfalas gestantes. **Biotemas**, v. 20, p. 103-114, 2007.

MCARDLE, H. J.; DANZEISEN, R.; FOSSET, C.; GANBLIN, G. L. The role of the placenta in iron transfer from mother to fetus and the relationship between iron status and fetal outcome. **BioMetals**, v. 16, p. 161-167, 2003.

MESS, A. Chorioallantoic and Yolk Sac Placentation in the Dassie Rat *Petromus typicus* and its Significance for the Evolution of Hystricognath Rodents. **Placenta**, v. 28, p. 1229-1233, 2007c.

MESS, A. Development of the chorioallantoic placenta in *Octodon degus* – A model for growth processes in caviomorph rodents? **Journal of Experimental Zoology**, v. 308B, p. 371-383, 2007b.

MESS, A. The “guinea pig” placenta: model of placental growth dynamics. **Placenta**, v. 28, p. 812-815, 2007a.

MESS, A.; ZAKI, N.; KADYROV, M.; KORR, H.; KAUFMANN, P. Caviomorph Placentation as a Model for Trophoblast Invasion. **Placenta**, v. 28, p. 1234-1238, 2007.

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

MIGLINO, M. A.; CARTER, A. M.; AMBROSIO, C. E.; BONATELLI, M.; OLIVEIRA, M. F.; DOS SANTOS FERRAZ, R. H.; RODRIGUES, R. F.; SANTOS, T. C. Vascular Organization of the Hystricomorph Placenta: a Comparative Study in the Agouti, Capybara, “guinea pig”, Paca and Rock Cavy. **Placenta**, v. 25, p. 438-448, 2004.

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

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. **Embriologia Clínica**, 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Ltda, 609 p. 2004.

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

MURAI, T.; YAMAUCHI, S. Erythrophagocytosis by the trophoblast in a bovine placentome. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 48, p. 74-87, 1986.

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

NOWAK, R. **Walker’s mammals of the world**, v. 2. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1999.

OLIVEIRA, M. F. **Placentação em mocos, *Kerodon rupestris*. Wied, 1820**. 2004. 208 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

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

POOR, A. **Sigmodontinae** (on-line). Animal Diversity Web. University of Michigan Museum of Zoology. 2005 - Disponível em: <HTML://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Sigmodontinae.html.> Acesso em: 10 jan. 2007.

REIG, O. A. Distribuição geográfica e história evolutiva dos roedores muróides sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). **Revista Brasileira de Genética**, v. 7, p. 333-365, 1984.

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

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

SCHNEIDER, H. Ontogenic changes in the nutritive function of the placenta. **Placenta**, v. 17, n. 1, p. 15-26, 1996.

SIMMONS, D. G.; CROSS, J. C. Determinants of trophoblast lineage and cell subtype specification in the mouse placenta. **Developmental Biology**, v. 284, p. 12-24, 2005.

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

SOUSA, A. D. Variáveis Conceituais de Eutanásia. 2003. **Revista Escola de Direito**, Pelotas, v. 4, n. 1, p. 505-522, 2003.

TAKATA, K.; FUJIKURA, K.; SHIN, B. C. Ultrastructure of the rodent placental labyrinth: a site of barrier and transport. **Journal of Reproduction and Development**, v. 43, n.1, p. 13-24, 1997.

TAM, W. H.; BURGESS, S. M. The developmental changes in the placenta of the "guinea pig". **Journal Anatomy**, v. 123, n. 3, p. 601-614, 1977.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHEMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. ed. São Paulo: Manole. Baueri, 2003.

WATSON, E. D.; CROSS, J. C. Development of Structures and Transport Functions in the Mouse Placenta. **Physiology**, v. 20, p. 180-193, 2005.

WINSATT, W. A. New histological observations on the placenta of the sheep. **American Journal of Anatomy**, v. 87, p. 391-458, 1950.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)