

AGRÁRIA

Revista Brasileira de Ciências Agrárias

v.4, n.4, p.463-466, out.-dez., 2009

Recife, PE, UFRPE. www.agraria.ufrpe.br

Protocolo 460 - 24/09/2008 • Aprovado em 04/09/2009

Maria R. P. Moura¹Antonio de P. Marques Júnior¹

Morfometria do placentomo de vacas mestiças nos terços inicial, médio e final da gestação

RESUMO

Este trabalho objetivou quantificar as células maternas e avaliar a proporção volumétrica dos componentes estruturais do placentomo de vacas mestiças nos terços inicial, médio e final da gestação, determinados por biometria fetal. Foram utilizados dez úteros gestantes, de cada terço gestacional, de vacas abatidas em frigorífico da Região Metropolitana de Belo Horizonte – MG. O trimestre de prenhez foi determinado pelo comprimento ápico-caudal do feto. Os placentomos foram colhidos e fixados em solução de formol a 10% e processados para avaliações histológicas. No terço final da gestação, as células maternas do placentomo apresentam-se de tamanho diminuído. A proporção volumétrica das células fetais, binucleadas e gigantes, bem como vasos do placentomo não variou durante a gestação, enquanto a das células maternas e do tecido conjuntivo fetal apresentavam-se menores no terço inicial da gestação e a do tecido conjuntivo materno foi maior no terço final da mesma. Conclui-se que a quantidade de células maternas do placentomo e a proporção volumétrica de alguns de seus componentes estruturais variam durante a gestação da vaca mestiça.

Palavras-chave: bovino, morfologia, placenta

Morfometric evaluation of the crossbreed Holstein/Zebu cow placentome in the first, second and third trimester of pregnancy

ABSTRACT

The aim of this study was to quantify the maternal cells and evaluate the volumetric proportions of structural components of crossbreed Holstein/Zebu cow placentome in the first, second and last trimester of pregnancy. For each trimester were used ten pregnant uteri, collected in slaughterhouse. The trimester of pregnancy was determinate using the crown-rump length. The placentomes were fixed in formol 10% and processed for histological examination. At the last trimester the maternal cells of the placentome decreased. The volumetric proportion of the fetal cells, binucleate cells, giant cells and vessels did not vary during gestation, while the volumetric proportion of the maternal cells and the fetal placentome conjunctive was lower at the first trimester of pregnancy. The maternal conjunctive tissue was higher in the last trimester of pregnancy. The results show that the number of maternal cells and the volumetric proportion of some structural components of the crossbreed Holstein/Zebu cow placentome change during pregnancy.

Key words: bovine, morphology, placenta

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG, CP 567, CEP. 30123-970. Fone: (31) 34092233 Fax: (31) 34092230. E-mail: mariaraquel.moura@gmail.com; ampinho@vet.ufmg.br

INTRODUÇÃO

A placenta, órgão formado exclusivamente por tecidos fetais que interagem com tecidos maternos, tem funções nutritiva, protetora, respiratória, endócrina e imunossupressora. Nos mamíferos da subclasse Eutheria, a placenta é responsável pelo intercâmbio metabólico materno-fetal durante a maior parte do período de gestação (Amoroso, 1952). Na vaca, a placentação é considerada vilosa, sendo classificada como cotiledonária, adecuada ou epiteliochorial (Bjorkman, 1982).

O endométrio da vaca apresenta áreas especializadas, denominadas de carúnculas uterinas, as quais não apresentam glândulas endometriais e são responsáveis pela interação com a membrana corioalantóide para formação do placentomo (King et al., 1982; Silva et al., 2004).

A placenta sofre mudanças estruturais durante a gestação, que estão relacionadas com o momento do parto e a expulsão da mesma (Bjorkman, 1954).

O trofoblasto e o epitélio materno do placentomo também sofrem alterações morfológicas ao longo da gestação, sendo que a diminuição do número de células do epitélio nas criptas das carúnculas parece estar relacionada com a maturação placentária (Marques Júnior, 1988). O número de células epiteliais maternas das criptas diminui em vacas taurinas (Marques Júnior, 1988) e zebuínas (Barreto Filho, 1992). Progressivamente, o epitélio materno torna-se achatado e, eventualmente, desaparece em algumas áreas. O número de células binucleadas também diminui (Williams et al., 1987).

Diversos trabalhos têm mostrado que animais com parto normal apresentam o número de células epiteliais maternas significativamente menor do que aqueles que retêm a placenta (Grunert et al., 1976; Grunert, 1980; Marques Júnior, 1988; Barreto Filho, 1992; Marques Júnior et al., 1993; Santos, 1995).

Aparentemente, a maturação e a liberação da placenta estão relacionadas com o decréscimo das células binucleadas (Margolis et al., 1983; Williams et al., 1987), que têm papel importante no mecanismo de separação das membranas fetais durante o parto (Gross et al., 1991; Wooding, 1992). As células binucleadas são capazes de produzir quantidade considerável de progesterona e pregnenolona (Reimers et al., 1985; Ullman & Reimers, 1989). Evans & Wagner (1981) observaram que o tecido dos vilos fetais é capaz de converter os precursores pregnenolona e androstenediona em estrogênios. Imediatamente antes do parto ocorre redução na síntese de progesterona e aumento na síntese de estrogênios e de prostaglandinas (Gross & Williams, 1988). Esses achados confirmam o papel endócrino das células binucleadas no processo de parto e na separação das membranas fetais (Lee et al., 1986; Wooding, 1992; Wango et al., 1992).

Com base na literatura e na necessidade de aprofundamento do conhecimento sobre a fisiologia da gestação e da estrutura da placenta da vaca mestiça, foi realizado este trabalho com o objetivo de avaliar a morfometria do placentomo nos terços inicial, médio e final da gestação.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se trinta úteros gestantes, obtidos em frigorífico da Região Metropolitana de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, no período de maio a julho de 2007, de vacas mestiças Holandês/Zebu abatidas com idades gestacionais diferentes e classificadas em três grupos de acordo com o terço gestacional, sendo dez animais em cada grupo, constituindo o Grupo 1 (G1) no terço inicial (0 a 89 dias), o Grupo 2 (G2) no terço médio (90 a 180 dias) e o Grupo 3 (G3) no terço final (181 a 280 dias) de gestação. As genitálias foram retiradas dos animais imediatamente após o abate, para exposição do feto. Foi realizada incisão longitudinal na curvatura maior do corno uterino gestante até a secção do cordão umbilical, e registro do comprimento ápico-caudal do feto para determinação da idade gestacional, segundo Richardson (1989). Um placentomo foi retirado da região medial da curvatura maior do útero e colocado em recipiente contendo formol a 10%. Para o processamento de material para histologia, os fragmentos obtidos de cada placentomo foram desidratados, incluídos em parafina (Luna, 1968) e, posteriormente, corados com Hematoxilina-Eosina para avaliação em microscopia óptica.

A quantificação das células maternas do placentomo foi realizada através da microscopia óptica, com aumento de 400x, utilizando-se ocular micrométrica de 100 divisões. Foram utilizadas 30 divisões do micrômetro que, alinhadas paralelamente às células maternas, delimitaram a extensão do campo em que foram contadas as células, segundo metodologia empregada por Marques Júnior (1988). Foram contadas as células maternas na extensão delimitada pelas 30 divisões do micrômetro, em 20 campos microscópicos aleatórios.

O número de campos microscópicos a ser examinado foi determinado para se obter o intervalo de confiança de 95%, segundo a seguinte fórmula (Snedecor & Cochran, 1994):

$$L = 2 \cdot \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

em que: p = proporção; n = número de pontos; L = limite (intervalo de confiança a 95% de probabilidade.)

Os componentes estruturais do placentomo que tiveram sua proporção volumétrica avaliada foram: células maternas, fetais, binucleadas e gigantes (multinucleadas), vasos, tecido conjuntivo fetal e tecido conjuntivo materno, totalizando 2000 pontos por lâmina. O número de vezes que determinada estrutura atingiu os pontos foi utilizado para calcular sua proporção volumétrica (Sharpe et al., 1989). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e as diferenças entre as médias foram analisadas estatisticamente utilizando-se o teste t-Student com análise de variância simples. O nível de significância utilizado nos testes estatísticos foi de 5% (p<0,05) (Sampaio, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No terço inicial da gestação (G1), a média dos tamanhos dos conceptos foi de 13,5cm de comprimento ápico-caudal, o

que corresponde a, aproximadamente, 86,25 dias de gestação; no terço médio (G2), a média foi de 29,25cm, correspondendo a, aproximadamente, 125,62 dias de gestação; enquanto no terço final (G3), a média de foi de 63,77cm, correspondendo a, aproximadamente, 211,92 dias de gestação.

Os resultados mostram que o número médio de células maternas do placentomo apresentou diferença entre os terços inicial e final, e entre os terços médio e final da gestação (Tabela 1), semelhante aos resultados encontrados por Grunert et al. (1976); Grunert (1980) Woicke et al. (1986); Williams et al. (1987); Marques Júnior (1988); Barreto Filho (1992) e Santos (1995).

Tabela 1. Quantificação das células maternas do placentomo nos terços inicial (G1), médio (G2) e final (G3) da gestação de vaca mestiça

Table 1. Cow placentome quantification of maternal Cells in the first (G1), second (G2) and third (G3) trimester of pregnancy

G	Células Maternas
1	230,56±12,82a
2	204,63±17,66a
3	179,11±18,28b

^{ab} Letras desiguais, na mesma coluna, indicam diferença estatisticamente significativa (P < 0,05)

Alguns autores (Grunert et al., 1976, Grunert, 1980, Woicke et al., 1986 e Marques Júnior, 1988) relataram redução do número de células maternas a partir do sétimo mês de gestação, semelhante ao encontrado neste trabalho (Tabela 1). A proporção volumétrica das células maternas apresentou diferença (P<0,05) apenas no terço final da gestação (Tabela 2), semelhante ao relatado por Grunert et al. (1976), Grunert (1980), Marques Júnior (1988), Barreto Filho (1992) e Santos (1995), ao verificarem que animais com parto normal apresentam o número de células epiteliais maternas significativamente menor (P<0,05) do que aqueles que retêm placenta.

Tabela 2. Proporções volumétricas das células maternas (CelMater), Células Fetais (CelFetais), Células Binucleadas (CelBin), Células Gigantes (CelGig), Vasos, Tecido Conjuntivo Fetal (ConjFetal) e Tecido Conjuntivo Materno (ConjMat) do placentomo de vaca mestiça dos terços inicial (G1), médio (G2) e final (G3) da gestação

Table 2. Volumetric proportion of maternal cells (CelMater), Fetal cells (CelFetais), Binucleate Cells (CelBin), Giant cells (CelGig), Vessels (Vasos), Fetal Conjunctive (ConjFetal), Maternal Conjunctive (ConjMat) of the cow placentome in the first (G1), second (G2) and third(G3) trimester of pregnancy

G	CelMater	CelFetais	CelBin	CelGig	Vasos	ConjFetal	ConjMat
1	0,28±0,03a	0,27±0,04a	0,06±0,02a	0,03±0,01a	0,02±0,01a	0,02±0,01a	0,19±0,03b
2	0,27±0,03a	0,24±0,04a	0,04±0,01a	0,06±0,07a	0,02±0,01a	0,04±0,01b	0,21±0,04b
3	0,16±0,07b	0,29±0,07a	0,05±0,02a	0,03±0,01a	0,01±0,01a	0,05±0,02b	0,28±0,05a

^{ab} Letras desiguais, na mesma coluna, diferem estatisticamente (P < 0,05)

Os componentes estruturais do placentomo, tais como células fetais, células binucleadas, células gigantes e vasos, não apresentaram diferença (P<0,05) em sua proporção volumétrica entre os três terços gestacionais (Tabela 2). Estes resultados diferem dos obtidos por Williams *et al.* (1987), que

observaram redução no número de células binucleadas durante o período final da gestação da vaca. Entretanto, segundo Wooding (1983), o número destas células se mantém estável até o 260° dia da gestação, semelhante ao que foi encontrado neste trabalho.

A proporção volumétrica do tecido conjuntivo materno teve aumento significativo (P<0,05) somente no terço final da gestação (Tabela 2) semelhante ao relatado por Grunert (1980). Verificou-se também variação significativa (P<0,05) na proporção volumétrica do tecido conjuntivo fetal, que foi menor somente no terço inicial da gestação e manteve-se constante nos terços médio e final da mesma (Tabela 2). Tal achado difere daquele descrito por Grunert (1980), ao verificar que os tecidos conjuntivo fetal e materno tornam-se progressivamente mais ricos em colágeno à medida que o parto se aproxima, especulando que essa modificação é importante pré-requisito para liberação normal da placenta.

CONCLUSÃO

A morfometria do placentomo de vaca mestiça varia com o período de gestação, com redução das células maternas e binucleadas, e aumento do tecido conjuntivo no terço final da gestação.

LITERATURA CITADA

- Amoroso, E.C. Placentation. In: Parkes, A. S. (Ed.) Marshall's physiology of reproduction. 3 ed. London: Longmans Green, 1952, p.127-311.
- Barreto Filho, J.B. Aspectos morfológicos da placentação do Zebu (*Bos taurus indicus*). Belo horizonte: UFMG – Escola de Veterinária, 1992. 106p. Dissertação Mestrado.
- Bjorkman, N. Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. *Acta Anatomica*, v.22, n.2, p.1-91, 1954.
- Bjorkman, N. Placentação. In: Dellmann, H. D.; Brown, E. M. *Histologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1982. p.279-294.
- Evans, G.; Wagner, W.C. *In vitro* Placental estrogen synthesis by bovine placenta during pregnancy and induced parturition. *Acta Endocrinologica*, v.98, n.1, p.119-125, 1981.
- Gross, T.S.; Williams, W.F. *In vitro* steroid synthesis by the placenta of cows in late gestation and at parturition. *Journal of Reproduction and fertility*, v.83, n.2, p.65-73, 1988.
- Gross, T.S.; Williams, W.F.; Russek-Cohen, E. Cellular changes in the peripartum bovine fetal placenta related to placental separation. *Placenta*, v.12, n.1, p.27-35, 1991.
- Grunert, E.; Schulz, C.; Ahlers, D. Retained placenta problems induced labor in cattle. *Annales de Recherches Vétérinaires*, v.7, n.2, p. 135-38, 1976.
- Grunert, E. Etiology of retained bovine placenta. In: Morrow, D.A. (Ed.) *Current Therapy in Theriogenology*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1980. p. 180-86.
- King, G.J.; Atkinson, B.A.; Robertson, H.A. Implantation and early placentation in domestic ungulates. *Journal of Reproduction and Fertility*, Suppl.31, p.17-30, 1982.

- Lee, C.S.; Gogolin-Ewens, K.; Brandon, M.R. Comparative studies on the distribution of binucleate cells in the placenta of the deer and cow using the monoclonal antibody, SBU-3. *Journal of Anatomy*, v.147, n.22, p.163-79, 1986.
- Luna, L.G. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3 ed. New York: McGraw Hill. 1968. 258p.
- Margolis, M.J.; Williams, W.F.; Davidson, J.P.; Douglass, L.W. Placental necrosis and giant cell number in relation to placental retention in cows. *Journal of Animal Science*, v.57, Suppl.1, p.355, 1983.
- Marques Júnior, A.P. Leucocyte chemotaxis activity by cotyledons of dairy cows with normal delivery and retained placenta. Urbana: University of Illinois, 1988. 182p. Thesis PhD.
- Marques Júnior, A.P.; Barreto Filho, J.B.; Saturnino, H.M. Aspectos morfológicos da placenta da vaca Zebu (*Bos taurus indicus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.45, n.2, p.213-219, 1993.
- Reimers, T.J.; Ullman, M.B.; Hansel, W. Progesterone and prostanoid production by bovine nucleate trophoblastic cells. *Biology and Reproduction*, v.33, n.5, p.1227-36, 1985.
- Richardson, C. Personal communication In: Arthur, G.H.; Nokes, D.E.; Pearson, H. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 6.ed. Londres: Baillière Tindall, 1989. p.49-59.
- Sampaio, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2 ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.
- Santos, R.L. *Estudo morfológico da placenta de vacas leiteiras com liberação normal e com retenção*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária UFMG, 1995. 102p. Dissertação Mestrado.
- Sharpe, K.L.; Eiler, H.; Cullen, W.C.; Hopkins, F.M. Morphometric analysis of collagen in gestacional and retained bovine placentomes. *Theriogenology*, v.32, n.3, p.485-491, 1989.
- Silva, D.F.P.; Moraes-Pinto, L.; Santos, T.C.; Miglino, M.A. Aspectos macroscópicos e vascularização da placenta e do cordão umbilical de bovinos da raça nelore. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.28, n.5, p.259-267, 2004.
- Snedecor, G.W.; Cochran, W.G. *Statistical Methods*. 8 ed. Ames: Iowa State University Press, 1994. 503p.
- Ullman, M.B.; Reimers, T.J. Progesterone production by binucleate trophoblastic cells of cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, supl.37, p.173-179, 1989.
- Wango, E.O.; Heap, R.B.; Wooding, F.B.P. Regulation of steroid synthesis and metabolism in isolated binucleate cells of placenta in sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.94, n.1, p.203-211, 1992.
- Williams, W.F.; Margolis, M.J.; Manspeaker, J.; et al. Peripartum changes in the bovine placenta related to fetal membrane retention. *Theriogenology*, v.28, n.2, p.213-23, 1987.
- Woicke J.; Schoon, H.A.; Heuwieser, W.; Schulz, L.C., Grunert, E. Morphological and function aspects of placental maturation mechanisms in the cow. I. Light microscopy. *Journal of Veterinay Medicine, Series A*, v.33, n.9, p.660-667, 1986.
- Wooding, F.B.P. Frequency and localization of binucleate cells in the placentomes of ruminants. *Placenta*, v.4, special n., p.527-540. 1983.
- Wooding, F.B.P. Current topic: the sinepitheliochorial placenta of ruminants: cell fusions and hormone production. *Placenta*, v.13, n.2, p.101-113. 1992.