

## DESENVOLVIMENTO DAS MEMBRANAS FETAIS EM CARNÍVOROS, (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758<sup>1</sup>)

Cristiane V. WENCESLAU<sup>2</sup>, Maria Angélica MIGLINO<sup>3</sup>,  
Carlos Eduardo AMBRÓSIO<sup>4</sup>, Ana Flávia de CARVALHO<sup>4</sup>,  
Priscila Carvalho de OLIVEIRA<sup>4</sup>, Nivaldo FIORAVANTE FILHO<sup>5</sup>,  
Ricardo Alexandre ROSA<sup>6</sup>, Celina Almeida F. MANÇANARES<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Projeto de Iniciação Científica – Fapesp nº 03/03078-9.

<sup>2</sup> Bolsista de Iniciação Científica do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEOP - FAPESP (Proc. nº 03/03078-9).

<sup>3</sup> Professora Titular do Departamento de Cirurgia da FMVZ/USP, São Paulo/SP.

<sup>4</sup> Professor do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEOP, São João da Boa Vista, SP.

<sup>5</sup> Aluno do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEOP, São João da Boa Vista, SP.

<sup>6</sup> Técnico Laboratorial da UNIFEOP, São João da Boa Vista, SP.

<sup>7</sup> Aluna de Pós-Graduação da FMVZ/ USP e Técnica Laboratorial da UNIFEOP, São João da Boa Vista, SP.

**RESUMO:** O presente estudo visa fornecer subsídios morfológicos que possam contribuir para pesquisas nos processos de biotecnologia da reprodução, bem como fertilização *in vitro*, clonagem e obtenção de células-tronco, visto que esses processos em carnívoros são complexos e complicados. Sendo assim nossa proposta objetiva a descrição das estruturas e evolução das membranas fetais em cães, incluindo o processo de involução do saco vitelínico.

**PALAVRAS-CHAVE:** alantóide, âmnio, saco vitelínico.

### INTRODUÇÃO

A espécie canina tem por característica biológica, gestações múltiplas com número de filhotes variável. O saco coriônico de cada concepto forma quase um saco cilíndrico arredondado na extremidade, no qual evidencia-se em sua porção intermediária um espesso anel que constitui a placenta zonária anular.

O âmnio é relativamente vasto. Sua face externa é aderente ao alantóide que o envolve e o separa do cório. Toda a face externa do âmnio reveste a face interna do cório. Na face externa corionica ocorre uma transformação sincicial particular. Este sincício é atacado e absorvido pelas células do trofoblasto, antes que se

origine um sinciotrofoblasto. As lamelas coriônicas invadem a lâmina própria do endométrio, como uma expansão inicialmente primária, e posteriormente secundária, na qual se estendem os vasos alantóideos. As dobras lamelares do alantocório encaixam-se no tecido conjuntivo endometrial, o qual mostra-se rico em vasos maternos constituindo o labirinto placentário. Forma-se assim uma decídua, a qual a partir do parto, pela destruição do fino estrato intermédio, “estrato de junção”, entre o espaço esponjoso profundo do endométrio, assegurará a regeneração do mesmo. Ao final da gravidez, o anel placentário levemente escavado na sua parte média,

mostra aspecto esponjoso e de coloração vermelho escura. Em uma faixa marginal apresenta numerosos hematomas microscópicos formados a partir da segunda metade da gravidez por extravasamento de sangue materno. Estes hematomas são vastos e localizados na margem placentária da cadela e da gata (menores e mais numerosos). Neste caso a superfície do cório liso e atinge o endométrio.

As chamadas “bordas verdes” da placenta ocorrem pela transformação da hemoglobina em um pigmento particular, análogo ao biliar, denominado uteroverdina. Este pigmento persiste até o final da gestação da cadela (GREYER & FRIESS, 1993; GROSSER, 1909; LEISER & ENDERS, 1980; LEISER & KAUFMAN, 1994; LEISER & KOHLER, 1983; LEISER & KOOB, 1993; NODEN & LAHUNTA, 1990; WYNN & AMOROSO, 1964). AMBRÓSIO & MIGLINO, (2001) descreveram a placenta do *Canis familiares* onde os hematomas marginais estão localizados nas margens da cinta placentária, perfazendo o contorno anular da placenta, confirmando a sua classificação de zonária anular completa CUPPS, 1991 descreve que os hematomas se localizam no meio e ao redor do concepto. Os hematomas apresentam uma pigmentação escura, e nessa área ocorre predominantemente nutrição histotrófica. BJORKMAN, 1970 descreveu a placenta dos carnívoros como zonária e portadora de vilos coriônicos que compõe o anel placentário. Este se relaciona com o saco coriônico e com o endométrio. Por outro lado, a placenta dos carnívoros foi classificada como endoteliocorial, na qual o epitélio uterino estava ausente e somente o endotélio dos vasos

separavam as circulações materna e fetal.

O desenvolvimento da placenta inicia-se por volta do 21º dia após a ovulação, quando uma aderência permanente começa a se desenvolver entre cada embrião do endométrio. Este processo na fêmea é melhor descrito como nidação e resulta na formação das membranas fetais. A placenta é a união entre a porção mais externa das membranas fetais (alantocório) e o revestimento do útero (o endométrio); troca de gases e nutrientes ocorre entre o sistema circulatório (capilares) da mãe e feto (ALLEN, 1995).

#### MATERIALE MÉTODO

Para a descrição da morfologia do desenvolvimento das membranas fetais de *Canis familiares* foram utilizadas 09 cadelas que tiveram a idade gestacional conferida por ultrassonografia. Foi estabelecida a idade média fetal com 20, 40 e 60 dias de gestação, para posteriormente realizarmos a ovariosalpingo-histerectomia.

Todos os material, fetos e suas membranas, foram transportados pós-cirurgia para o laboratório de Anatomia da FMVZ-USP. Foram analisadas as idades fetais pela utilização do Crown-rump de cada feto, e confrontaram-se esses dados com aqueles obtidos durante os exames ultrassonográficos já realizados, para a confirmação do período gestacional. O volume dos anexos fetais, a dimensão da placenta, o peso placentário e a descrição da morfologia macroscópica do órgão foram considerados.

Injetou-se látex Neoprene 650 corado para evidenciar os sistemas arterial e venoso placentários, procedimento possível apenas em fetos com idade próxima a 60

dias, seguidos de dissecação, elaboração de esquemas e fotografias, conseguindo assim demonstrar a distribuição vascular sobre o tecido placentário.

Foram elaborados esquemas dos anexos fetais em relação a topografia do feto.

Para análise microscópica, as membranas fetais foram separadas, seccionadas e submersas em solução aquosa de paraformaldeído a 4% em tampão sódio-fosfato (PBS). Os fragmentos foram desidratados com séries de álcoois em concentrações crescentes (de 70 a 100%) e diafanizados em xilol, seguido de inclusão em paraplast (Paraplast Embedding Media-Paraplast Plus, Oxford Lab, USA) e secções de 4-5 micrômetros serão realizadas em um Polyartmicrotomo (Leica). Estes dados de análise serão incluídos no relatório final, concluindo a morfologia microscópica das membranas fetais em cães e gatos.

Os cortes serão corados com HE – Hematoxilina-Eosina, Picrosirius (JUNQUEIRA, 1988) e Tricrômico de Masson (BERHMER, 1954).

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em nossos resultados foram observados os materiais com idades gestacionais 20, 23, 24, 31, 40, 45 e 60 dias de gestação.

No material com 20 dias de gestação não foi possível a identificação e a visualização do feto e dos anexos embrionários.

O âmnion é uma membrana avascular fina e transparente, esta envolve todo o feto contendo no seu interior o líquido amniótico de aspecto translúcido. A partir de 40 dias de gestação está íntimo contato com o alantóide interno, sendo este responsável por sua nutrição.

O alantóide é uma membrana

vascularizada, contendo no seu interior o líquido amniótico que coloração amarelada, sendo bem mais intensa em gestações mais avançadas. A partir de 40 dias de gestação encontramos duas membranas alantoideanas uma externa que mantém íntimo contato com o saco gestacional e uma interna que mantém íntimo contato com o âmnion.

O saco vitelínico é uma membrana enrugada altamente vascularizada de coloração avermelhada sendo bem mais intensa em gestações maiores. Possui um formato de “T” invertido se localizando ventral ao feto. No início da gestação esta chega há corresponder a 3X o tamanho do feto, onde no final da gestação esta proporção chega a ser invertida.

No material onde foi injetado látex neoperene® foi possível identificar os vasos do cordão umbilical, que contém duas artérias originárias da aorta abdominal do concepto, uma veia fusionada originária do fígado, o pedículo vitelínico e o pedículo alantoideano. Os vasos do cordão umbilical se ramificam para a face interna da cinta placentária.

As margens da cinta placentária foram encontrados os hematomas marginais, que são bem desenvolvidos a partir de 40 dias de gestação possuindo uma coloração verde bem intensa. No início de gestação a cinta placentária envolve todo o saco gestacional, onde no final gestação esta envolve o feto se localizando entre as vértebras torácicas e lombares.

Em relação às membranas fetais ROMER & PARSONS, 1981 descreveram que estas equivalem exatamente ao córion, o âmnion e o saco vitelínico, respectivamente. Ao crescer o embrião e aumentar de tamanho a cavidade amniótica ao seu redor, a união da haste

vitelina e da haste do alantóide com o corpo forma o estreito cordão umbilical, equivalente aos nossos achados neste trabalho.

BJORKMAN et al, 1989, descreveu o saco vitelínico é inicialmente grande, passando rapidamente para a involução. Já o alantóide formava-se como volumoso saco devido a comunicação com o sistema urinário, em nosso trabalho esta descrição utilizada pelo autor foi compatível com os nossos resultados, sendo apenas modificados termos anatômicos pertinentes aos dias atuais.

Consideramos e achamos pertinentes para nosso trabalho, os achados de MOSSMAN, 1987 que descreveu a placenta na Ordem Carnívora, as características encontradas nos carnívoros e nunca encontradas em outros grupos de animais é a presença do formato "T" do saco vitelino no sistema definitivo da placenta. Um saco alantóide muito grande e hematomas são comuns em todos os carnívoros. Uma membrana intersticial sobre o qual o entodélio materno da zona íntima descansa (cório). AMBRÓSIO et al. 2000, descreveu a vascularização da placenta e funículo umbilical da gata (*Felis catus*) e relatou que o funículo umbilical pode ser dividido em três porções: justafetal, justaplacentária e terço médio. Já BARONE, 1976 descreveu o cordão umbilical dos carnívoros é espesso e curto, medindo aproximadamente 10cm de comprimento na cadela. Ele está composto por uma parte amniótica curta (cerca de 2cm) e uma parte alantóide que se estende do âmnio à placenta. Os achados em *Canis familiaris* assemelham-se aos resultados obtidos em cães e em gatos citados pelos autores acima.

AMBRÓSIO & MIGLINO 2001, descreveram a placenta de *Canis familiaris* disposta ao redor do feto, em formato de anel, circundando o concepto, topograficamente disposta em relação ao feto desde as vértebras torácicas até o final das vértebras lombares. Em suas margens encontram-se dois hematomas marginais de coloração delimitando o tecido ou cinta placentária de coloração rosada. Os hematomas marginais estão localizados nas margens da cinta placentária, perfazendo o contorno anular da placenta, confirmando a sua classificação de zonária anular completa. Sua conexão com o feto se faz mediante o cordão umbilical. Um resquício do saco vitelino caracteriza a placenta coriovitelínica localizada ventralmente ao feto, o qual, no final da gestação ainda apresenta inúmeros ramos vasculares, este mesmo resultado foi obtido em nosso trabalho.

#### CONCLUSÕES

Todos os anexos embrionários começam a ser formar a partir da 3ª semana de gestação onde o alantóide é o último a ser formado.

O saco vitelínico é uma estrutura enrugada e altamente vascularizada, possuindo um formato de "T invertido em todos os períodos de gestações estudados".

A membrana alantoideana é vascularizada, contendo no seu interior o líquido alantoideano de coloração amarelada.

O âmnio é uma membrana delicada fina e transparente sendo avascular, contendo no seu interior o líquido amniótico.

Os três anexos embrionários possuem o volume e o tamanho proporcionais ao período de gestação com exceção do saco

vitelinico que sofre o processo de involução.

#### REFERENCIAS

- ALLEN, W. E. **Fertilidade e Obstetrícia no cão**. Varela: São Paulo, 1995.
- AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M. A. Morfofisiologia da placenta canina, *Canis familiaris*, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n.2, p. 164-176, 2001.
- BEHMER, O.A. et al. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edeart, 1976.
- BJÖRKMAN, N.: **An atlas of placental fine structure**. London: Baillière Tindall, 1970..
- CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic animals**. 4ed. San Diego: Copyright, 1991.
- GRETHER, B. M.; FRIESS, A. E. Die drüsenkammern der hundepazenta eine rasterelektronenmikroskopische untersuchung. **Schweiz. Arch. Tierheilh.** v.135, p. 272-278, 1993.
- GROSSER, O. **Vergleichende Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Placenta**. Vienna: W. Brau-Muller, 1909.
- JUNQUEIRA, L.C.V.; BIGNOMAS, G.; BRETAN, R.P. Picosirus staining plus polarization microscopy, a specific method for collagem detection in the tissue sections. **Histochem Journal**. v.11, p.447-225,1979.
- LEISER, R.; KOOB, B.: Development and characteristics of placentation in a carnivore, the domestic cat. **The Journal of Experimental Zoology**, v.266, p. 642-656, 1993.
- LEISER, R.; ENDERS, A. C. Light and electron-microscopy study of the near-term paraplacental of the domestic cat, I . Polar zone and paraplacental junctional areas. **Acta anatomy**, v.106, p. 293-311, 1980a.
- LEISER, R.; KOHLER, T. The blood vessels of the cat girdle placenta. Observations on corion casts, scanning electron microscopical and histological studies. **Anatomy and Embryology**, v.170, p. 210-216, 1983.
- WYNN, R. M.; AMOROSO, E. C. Placentation in the spotted hyena (*Crocuta crocuta erxleben*), with particular reference to the circulation. **American Journal of Anatomy**, v.115, p. 327, 1964.