



Proporções volumétricas dos componentes estruturais do placentomo da vaca mestiça Holandês-Zebu segundo a ordem de parto

Volumetric proportions of placentome structural components of the crossbred Holstein-Zebu according to the delivery order

C.A. Mota, R.A.C. Leão, P.R. Xavier, A.P. Marques Júnior¹

Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

¹Correspondência: ampinho@ufmg.br

Resumo

Avaliou-se a proporção volumétrica dos constituintes do placentomo de vacas mestiças Holandês-Zebu de diferentes ordens de parto, utilizando-se 15 fêmeas gestantes, sem retenção de placenta e classificadas em três grupos de acordo com a ordem de parto: o G1 formado por cinco vacas de primeira ordem de parto, o G2 por cinco vacas de segunda e o G3 por cinco vacas de terceira ou mais ordens de parto. A proporção volumétrica dos componentes estruturais estudados não diferiu estatisticamente entre os três grupos, exceto para o tecido conjuntivo materno (CM) e o epitélio fetal (EF). As proporções volumétricas do tecido CM foram $31,36 \pm 6,97$ no G1, $19,82 \pm 4,06$ no G2 e $19,38 \pm 0,88$ no G3, e observou-se diferença estatística significativa do G1 quando comparado ao G2 e ao G3 ($P < 0,05$). Na proporção volumétrica do tecido EF, as médias do G1, G2 e G3 foram $12,52 \pm 2,57$, $18,46 \pm 3,11$ e $22,04 \pm 4,62$, respectivamente. Para essa análise, houve diferença estatística entre o G1 e o G3 ($P < 0,05$), entretanto o G2 não diferiu estatisticamente do G1 e do G3 ($P > 0,05$). Conclui-se que o placentomo de vacas de primeira ordem de parto exibe maior proporção do tecido conjuntivo materno em relação às vacas de segundo ou mais partos e que ocorre aumento progressivo da proporção do epitélio fetal no placentomo com o aumento do número de partos.

Palavras-chave: bovino, colágeno, gestação, retenção placentária.

Abstract

The volumetric proportion of the placentome was evaluated in crossbred Holstein-Zebu cows of different delivery orders. Fifteen pregnant cows without retained placenta were used and classified into three groups according to the delivery order, being the first group (G1) formed by heifers, the second (G2) by cows in second delivery and third (G3) by cows with two or more delivery orders. The volumetric proportion of structural components evaluated did not differ significantly among the three groups, except for the connective maternal tissue (CM) and fetal epithelium (FE). Volumetric proportions of the CM were 31.36 ± 6.97 in G1, 19.82 ± 4.06 in G2, and 19.38 ± 0.88 in G3, and the difference was statistically significant when comparing G1 with G2 and G3 ($P < 0.05$). In the FE volumetric proportion the average for G1, G2 and G3 was 12.52 ± 2.57 , 18.46 ± 3.11 and 22.04 ± 4.62 , respectively. For this analysis there was statistical difference between G1 and G3 ($P < 0.05$), however G2 did not differ statistically from G1 and G3 ($P > 0.05$). It can be concluded that the placentome of first-order cows exhibits a higher proportion of the maternal connective tissue than the second or more delivery orders, and that there is a progressive increase in the proportion of fetal epithelium in the placentome with the increasing number of pregnancies.

Keywords: bovine, collagium, placenta retention, pregnancy.

Introdução

O Brasil ocupa a quinta posição como maior produtor de leite de vaca do mundo. Contudo, a pecuária leiteira nacional ainda é caracterizada pela baixa produtividade dos rebanhos, com média de 3,7 litros/vaca/dia (Embrapa Gado de Leite, 2012). O mau desempenho reprodutivo e a qualidade genética inferior de grande parte dos animais explorados como leiteiros são fatores determinantes da baixa produtividade, pois influenciam negativamente a produção de litros/hectare/ano, litros/vaca/ano e litros por dia de intervalo de partos. A precocidade ao primeiro parto, o rápido restabelecimento do aparelho reprodutivo no período puerperal e o retorno do animal à atividade reprodutiva normal possibilitam aumento da eficiência reprodutiva e maiores retornos financeiros (Martins, 2010). O período de serviço (PS), intervalo do parto ao primeiro estro fértil em que a fêmea torna-se gestante, influencia diretamente o intervalo de partos. É desejável que o PS seja de até três meses, porém a média nacional é de aproximadamente nove meses (Ferreira, 2010). A redução do período de serviço para três meses pode proporcionar, a um mesmo animal, um ganho de 50% na produção de leite, além de um maior número de crias durante sua vida reprodutiva (Santos et al., 1996). Vários fatores interferem na duração do período de serviço, entre eles: anestro pós-parto, identificação do estro, patologias puerperais, nutrição, ordem de parto, fatores ambientais e genéticos, os quais representam um entrave para a redução do



período de serviço (Horta, 1994; Ferreira, 2010). Entre as patologias puerperais mais comuns, a retenção de placenta (RP) destaca-se por ocorrer com uma frequência de 3 a 12% e, assim diminuir a eficiência reprodutiva do rebanho e, conseqüentemente, a lucratividade da atividade (Nobre et al, 2012; Ferreira, 2010). A ordem de parto, entre outros fatores de risco, está relacionada com o aumento da incidência de retenção de placenta em rebanhos leiteiros (Horta, 1994; Laven e Peters, 1996). Van Werwen et al. (1992), ao analisarem dados de 1010 partos eutócicos de 21 propriedades nos EUA, consideraram diferentes intervalos de tempo para expulsão da placenta e observaram que a incidência de RP aumenta com a ordem de partos (Tab. 1).

Tabela 1. Porcentagens de retenção de placenta em diferentes tempos de liberação.

Tempo de liberação da placenta	Vacas de 1º parto %	Vacas de 2º e 3º partos %	Vacas com mais de 3 partos %
>6 h	27,1	32,9	41,3
>12 h	10,1	19,5	28,1
>23 h	7,6	17,0	18,3

Adaptado de: Van Werwen et al. (1992).

Na vaca existem de 70 a 120 placentomos que se desenvolvem e aumentam de tamanho durante a gestação (Marques Júnior et al., 1993). No processo da placentação, as regiões carunculares (maternas) induzem a formação de vilosidades no tecido coriônico (fetal), os cotilédones, os quais interdigitam de forma a revestir as criptas carunculares para formar o placentomo, que na vaca tem característica convexa (Hradecky et al., 1988).

Histologicamente, o epitélio da cripta caruncular é cúbico ou achatado e suas células possuem núcleos esféricos com nucléolos evidentes (Bjorkman, 1982). Além dessas células cuboides, há também a presença de células gigantes multinucleadas (Derivaux et al., 1988).

Aspectos morfológicos do placentoma são um dos fatores mais afetados por alterações patológicas que induzem a falência do mecanismo de descolamento da placenta e estão comumente relacionados à retenção placentária.

A busca por novos conhecimentos, que possibilitem melhor descrição dos componentes estruturais do placentomo da vaca mestiça, é necessária para novas estratégias de prevenção e terapêutica da retenção de placenta (Bretzlaff, 1987; Horta, 1994; Williams et al., 2007; Moura e Marques Júnior, 2009; Machado et al., 2010), razão pela qual este trabalho foi proposto no contexto da realidade brasileira.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido após o projeto ter sido aprovado pelo CEUA-UFMG, sob o número 67/2012.

Utilizaram-se 15 fêmeas mestiças gestantes, composição genética de 3/4 a 31/32 Holandês/Zebu, sem retenção de placenta, e classificadas em três grupos segundo a ordem de parto, sendo o grupo 1 (G1) formado por cinco vacas de primeiro parto; o grupo 2 (G2) formado por cinco vacas de segundo parto e o grupo 3 (G3) formado por cinco vacas com três ou mais partos.

Imediatamente após a expulsão do feto, foi realizada a coleta de um placentoma da região do corpo do útero, utilizando um ovariótomo por via transvaginal. O placentoma coletado foi colocado inteiro em recipiente contendo glutaraldeído a 4%, tamponado com tampão fosfato 0,05M. Após aproximadamente duas horas, o placentomo foi seccionado transversalmente em três fragmentos, que foram novamente inseridos em outro recipiente com glutaraldeído, ficando imersos nesse fixador até serem destinados ao processamento histológico. Concomitantemente, a partir da expulsão fetal, foi observado para cada uma das vacas e novilhas o tempo decorrido entre a expulsão fetal e a expulsão da placenta, sendo utilizados para análise apenas os placentomos de vacas que expulsaram a placenta em até 12 h após a expulsão fetal.

Os fragmentos obtidos de cada placentomo foram desidratados por passagens sucessivas em soluções de álcool etílico, em concentrações crescentes, diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast® (Luna, 1968). Cortes de cada placentomo, com 5 µm de espessura, foram montados em lâmina de vidro, as quais foram coradas pela hematoxilina e eosina (HE) e pelo tricrômico de Masson para avaliação por microscopia óptica.

As proporções volumétricas de componentes estruturais do placentomo foram quantificadas sob aumento de 400x, e foram analisadas as seguintes estruturas: tecido conjuntivo materno (CM), tecido conjuntivo fetal (CF), tecido epitelial materno (EM), tecido epitelial fetal (EF), vasos maternos (VM), vasos fetais (VF) e células binucleadas (CB). Aleatoriamente, uma grade da ocular integradora contendo 25 pontos equidistantes (ocular integradora Zeiss KLP 10x) foi sobreposta a 40 campos microscópicos de uma mesma lâmina, e o número de vezes que determinada estrutura atingiu os pontos foi utilizado para calcular a proporção volumétrica dessa estrutura, segundo a fórmula de Sharpe et al. (1989), totalizando 1000 pontos por lâmina:



$$\text{Proporção volumétrica} = \frac{\text{Pontos por parâmetro} \times 100}{\text{Total de pontos contados}}$$

Para a análise dos colágenos materno e fetal do placentomo, foram utilizadas lâminas coradas pelo tricrômico de Masson, o qual possibilita evidenciar o colágeno, em azul, dos demais tecidos, que se coram em vermelho. Numa mesma lâmina, acoplada à ocular de um microscópio de luz, sob aumento de 400x, foram analisados 40 campos sobrepostos por uma ocular integradora de 25 pontos equidistantes. Quando o ponto incidiu sobre a área corada em azul ele foi computado para cálculo da proporção volumétrica do colágeno nos tecidos materno ou fetal. O somatório do número de pontos incidentes em determinada estrutura foi utilizado para calcular sua proporção volumétrica, segundo a fórmula de Sharpe et al. (1989):

$$\text{Proporção volumétrica} = \frac{\text{Somatório do número de pontos incidentes na estrutura} \times 100}{\text{Total de pontos contados}}$$

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso. As diferenças entre as médias foram analisadas estatisticamente, utilizando-se o teste de Tukey com análise de variância simples, SAS Institute Inc, 1999. O nível de significância utilizado nos testes estatísticos foi de 5% (Sampaio, 2002).

Resultados e Discussão

Os valores médios da proporção volumétrica dos constituintes do placentomo são apresentados na Tab. 2.

A proporção volumétrica dos componentes estruturais estudados não diferiu estatisticamente entre os três grupos, exceto nos casos do CM e EF.

Tabela 2. Porcentagem das proporções volumétricas dos componentes estruturais do placentomo de vacas mestiças Holandês-Zebu de primeiro (G1), segundo (G2) e terceiro ou mais partos (G3).

Grupo	CM (%)	EM (%)	VM (%)	CF (%)	EF (%)	VF (%)	CB (%)
1	31,36 ± 6,97 ^a	13,70 ± 2,09 ^a	5,16 ± 1,13 ^a	19,10 ± 4,34 ^a	12,52 ± 2,57 ^a	5,38 ± 2,86 ^a	3,34 ± 1,15 ^a
2	19,82 ± 4,06 ^b	17,44 ± 3,92 ^a	5,80 ± 1,60 ^a	20,10 ± 3,97 ^a	18,46 ± 3,11 ^{ab}	8,00 ± 2,92 ^a	2,82 ± 0,83 ^a
3	19,38 ± 0,88 ^b	18,52 ± 2,85 ^a	6,28 ± 0,86 ^a	16,76 ± 1,83 ^a	22,04 ± 4,62 ^b	8,56 ± 1,97 ^a	1,86 ± 0,96 ^a

Conjuntivo materno (CM). Epitélio materno (EM). Vasos maternos (VM). Conjuntivo fetal (CF). Epitélio fetal (EF). Vasos fetais (VF). Células binucleadas (CB). Média ± desvio-padrão. Médias e desvios seguidos de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A proporção volumétrica do CM foi maior no G1 (31,36 ± 6,97), quando comparada com as vacas do G2 (19,82 ± 4,06) e do G3 (19,38 ± 0,88; $P < 0,05$). Houve diminuição significativa na proporção volumétrica do tecido conjuntivo materno entre o G1 e os grupos G2 e G3; entretanto, a metodologia utilizada não foi suficiente para esclarecer essa diferença. Como não houve diferença estatística significativa na avaliação das proporções volumétricas do colágeno materno (Tab. 3), a explicação para a diferença entre o G1 e os demais grupos deve ser buscada na alteração de outros componentes do tecido conjuntivo. Não há na literatura estudos que comparem as proporções volumétricas dos componentes do placentomo de vacas com diferentes ordens de parto. O emprego de outras técnicas histológicas que evidenciem os diferentes tipos celulares do tecido conjuntivo materno é necessário para se avaliar qual ou quais componentes desse tecido apresentam-se em menor quantidade no placentomo da vaca de segundo ou mais partos, além de servir, ainda, para avaliar se essa diminuição pode contribuir de forma significativa para que ocorra a separação entre os tecidos materno e fetal com consequente aumento da incidência de RP.

Tabela 3. Proporções volumétricas dos colágenos materno e fetal do placentomo de vacas mestiças Holandês-Zebu de primeiro (G1), segundo (G2) e terceiro ou mais partos (G3).

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Colágeno fetal (%)	6,46 ± 2,01 ^a	7,36 ± 1,28 ^a	7,72 ± 1,94 ^a
Colágeno materno (%)	15,52 ± 1,87 ^b	15,22 ± 1,99 ^b	15,84 ± 2,85 ^b

Média ± desvio-padrão. Médias e desvios seguidos de letras diferentes nas mesmas linhas e colunas diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Observa-se também, na Tab. 2, que vacas de terceiro parto (G3) apresentaram maior proporção



volumétrica do EF em relação às de primeiro parto (G1), entretanto as vacas do G2 apresentaram valores semelhantes às de primeiro e de terceiro ou mais partos ($P > 0,05$). Na literatura, não foi encontrada uma explicação para esse aumento progressivo do epitélio fetal segundo a ordem de parto, ou seja, o que ocorre no útero gestante que favoreça o desenvolvimento do tecido fetal de forma mais intensa na medida em que o útero acompanha o amadurecimento cronológico do animal. Ao se associar tal achado a resultados na literatura sobre RP (Van Werwen et al., 1992; Nobre et al., 2012), poder-se-ia especular que o aumento progressivo do tecido epitelial fetal com a ordem de parto pode estar relacionado ao aumento na incidência da RP em animais com maior número de partos, pois a maior quantidade do tecido epitelial fetal, possivelmente, poderia fortalecer a ligação dos tecidos na interface materno-fetal e, assim, favorecer a ocorrência de mais casos de retenção.

Conclusões

Nas condições em que este experimento foi conduzido e ao se avaliarem características histológicas do placentomo de vacas mestiças Holandês-Zebu de primeiro, segundo e terceiro ou mais partos, conclui-se que o placentomo de vacas de primeira ordem de parto exhibe maior proporção de tecido conjuntivo materno em relação a vacas de segundo ou mais partos e que ocorre aumento progressivo da proporção do tecido epitelial fetal no placentomo com o aumento do número de partos.

Agradecimentos

À Capes, à Fapemig e ao CNPq, pelo apoio financeiro via *Grant* Pesquisador; à Fazenda Queima Ferro (QQF), Pitangui, MG.

Referências

- Bretzlaff K.** Rationale for treatment of endometritis in dairy cow. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, v.3, p.593-607, 1987.
- Bjorkman N.** Placentação. In: Dellmann HD, Brown EM (Ed.). *Histologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1982. p.279-294.
- Derivaux J, Ectors F, Beckers JF.** The ruminant placenta: structure and endocrine function. Brussels: State University of Liege, 1988. 81p
- Embrapa Gado de Leite.** Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0212.php>>, 2012. Acesso em: dez. 2012.
- Ferreira AM.** Reprodução da fêmea bovina: Fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos). Juiz de Fora: Editar, 2010. p. 219-235.
- Horta AEM.** Etiopatogenia e terapêutica da retenção placentária nos bovinos. In: *Jornadas Internacionais de Reproducción Animal*, 7, 1994, Murcia. Anais...Murcia: Editora, 1994. p.181-192.
- Hradecky P, Stover J, Stott GG.** Histology of a heifer placentome after interspecies transfer of a gaur embryo. *Theriogenology*, v.30, p.593-604, 1988.
- Laven RA, Peters AR.** Bovine retained placenta: etiology, pathogenesis and economic loss. *Vet Rec*, v.9, p.465-471, 1996.
- Luna LG.** Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3.ed. New York: McGraw Hill, 1968. 258p.
- Machado ER, Xavier PR, Marques Jr AP.** Características histomorfométricas do placentomo de vacas Nelore ao longo da gestação. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.62, p.1388-1393, 2010.
- Marques Júnior AP.** Fisiologia do puerpério na vaca. *Rev Bras Reprod Anim Supl*, n.4, p.58-69, 1993.
- Martins TM.** Aspectos reprodutivos e produtivos de vacas da raça Holandesa e expressão gênica endometrial de receptores tipo toll e β -defensina 5 após o parto. 2010. 26p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, MG, 2010.
- Moura MRP, Marques Jr AP.** Morfometria do placentomo de vacas mestiças nos terços inicial, médio e final da gestação. *Agrária (Recife. Online)*, v.4, p.463-466, 2009.
- Nobre MM, Coelho SG, Haddad JPA, Campos EF, Lana AMQ, Reis RB, Saturnino HM.** Avaliação da incidência e fatores de risco da retenção de placenta em vacas mestiças leiteiras. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.64, p.101-107, 2012.
- Sampaio IBM.** Estatística aplicada à experimentação animal. 2.ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.
- Santos RL, Barreto Filho, JB, Marques Jr, AP.** Proporção volumétrica dos componentes estruturais do placentomo de vacas leiteiras com liberação normal e com retenção de placenta. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.48, p.317-324, 1996.
- Sharpe KL, Eiler H, Cullen WC, Hopkins FM.** Morphometric analysis of collagen in gestacional and retained



bovine placentomes. *Theriogenology*, v.32, p.485-491,1989.

Van Werven T, Schukken YH, Lloyd J, Brand A, Heeringa H Tj, Shea M. The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, v.37, p.1191-1203,1992.

Williams EJ, Fischer DP, Noakes GCW, England GCW, Rycroft A, Dobson H, Sheldon IM. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow, *Theriogenology*, v.68, p.549-559, 2007.
