

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

Estudo da morfometria do alantocórion e cordão umbilical de éguas Crioulas.

Gabriela Castro da Silva

Pelotas, 2024

Gabriela Castro da Silva

Estudo da morfometria do alantocórion e cordão umbilical de éguas Crioulas.

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre/Doutor em Ciências (área de concentração: Clínica Médica).

Orientador: Bruna da Rosa Curcio

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

S586e Silva, Gabriela Castro da

Estudo da morfometria do alantocórion e cordão umbilical de éguas Crioulas [recurso eletrônico] / Gabriela Castro da Silva ; Bruna da Rosa Curcio, orientadora. — Pelotas, 2024.
79 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Placenta. 2. Cordão umbilical. 3. Histomorfometria. 4. Microcotilédones. 5. Estereologia. I. Curcio, Bruna da Rosa, orient. II. Título.

CDD 636.1089262

Gabriela Castro da Silva

Estudo da morfometria do alantocórion e cordão umbilical de éguas Crioulas.

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre/Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 01/03/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Bruna da Rosa Curcio (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Fernanda Maria Pazinato
Doutor em Medicina veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Santa Maria

Prof. Dr. Maria Augusta Alonso
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade de São Paulo

Dedico esta tese, primeiramente a minha família que me deu apoio durante toda esta trajetória. A meu pai o qual sempre me estimulou a buscar no esforço e estudo todas as respostas. Ao grupo ClinEq que me ensinou o que era iniciação científica, e encorajando a cada etapa a aceitar novos desafios.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por me possibilitar a chance desta vida rica de pessoas e oportunidades maravilhosas! Palavras jamais serão suficientes para descrever e agradecer aos meus pais. Uma mãe forte e batalhadora que me ensinou sempre a continuar e um pai doce, que em todos os momentos ensinou que nos a partir de nosso trabalho e esforço conquistamos oportunidades e espaços. Pela criação abençoada a que foi me dada, como família podemos sonhar e planejar meus passos até este momento.

Ao Grupo ClinEq, o qual desde o meu primeiro dia de universidade me acolheu, grupo o qual, me ensinou muito além do ensino e da pesquisa, me formou como pessoa e profissional. Me deu oportunidades ímpares na vida de aprender com pessoas que marcaram minha vida como exemplos de profissionais, orientadores e mulheres: Luciana Araujo, Fernanda Maria Pazinato e Patrícia Vieira. Como também me possibilitou estágios que formaram minha visão crítica e foram essenciais para decisão de especialização. O ClinEq foi para mim um local de aprendizado, onde a cada temporada e novos desafios que a minha maturidade acadêmica foi exigindo me aprimorou. Muito mais que isso, não foi um apenas um ambiente de trabalho, me deu uma família dentro da universidade, a qual esteve comigo e me ajudou a me recuperar dos momentos pessoais mais difíceis que passei. Gratidão é muito pouco para definir os 10 anos de trabalho, 10 anos de temporadas, 10 anos de amizade, serei sempre ClinEq.

Aos amigos que o ClinEq me proporcionou, Tais Del Pino, Mariana Mousquer, Rafaela Souza, Luiza Gheno, Marcos Neto, Rafaela Amestoy, Esther Mello, Gabriela Marocco, Isadora Paz, André Machado, Rafaela Bastos, Paloma Dallmann, e tantos outros aos longos destes anos, espero ter marcado e aprimorado a vida de vocês como vocês fizeram comigo. Da nossa maneira discutimos e aprendemos um com outro sem nenhum tipo de limite no nosso dia a dia.

Ao meu Co- Orientador Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira, agradeço a oportunidade que me deu de conviver e aprender com sua referência de profissional. Muito mais que isso por ao longo dos anos nos moldar para o futuro.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Bruna da Rosa Curcio, que foi muito mais que orientadora, que há 10 anos atrás me aceitou como um desafio e me guiou ao longo de toda minha graduação, mestrado e doutorado, que esteve ao meu lado me dando todo suporte, agradeço por ter me acolhido, ter acreditado em mim e desenvolvido meu potencial. Ainda agradeço a amizade, apoio, conselhos, mijadas merecidas e ensinamentos transmitidos, sem isso em uma zona de conforto eu não teria evoluído. Obrigada pelas horas dedicadas a este trabalho. Obrigada por tudo! Te admiro muito, como profissional e mulher, me sinto honrada em ter trabalhado ao teu lado.

À Universidade Federal de Pelotas pela infraestrutura, e a todos que contribuem de alguma forma para a formação de Mestres/Doutores do Curso de Pósgraduação em Veterinária (PPGV).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de estudo.

Resumo

SILVA, Gabriela Castro. **Estudo da morfometria do alantocórion e cordão umbilical de éguas Crioulas** 2024. 79f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

A placenta caracteriza-se como um órgão transitório, formado por tecidos de origem materna e fetal, com a função de transportar substâncias nutritivas do organismo materno para o feto, bem como promover trocas metabólicas e desempenhar funções endócrinas, sendo responsável pela síntese, secreção e absorção de uma série de substâncias, incluindo hormônios, fatores de crescimento, enzimas, proteínas e carboidratos, todos essenciais ao desenvolvimento do feto. A criação de equinos da raça Crioula está amplamente difundida nas Américas. Tendo em vista a grande importância da raça e a escassez de informações específicas sobre a placentação este trabalho tem o objetivo de caracterizar a placenta e cordão umbilical de éguas da Raça Crioula no pós-parto, considerando avaliação macroscópica, histológica, morfométrica e estereológica. Assim foram compilados três artigos. Artigo 1: “Características anatomo-funcionais do alantocórion de éguas Crioulas saudáveis e sua relação com a biometria materna e neonatal.” Ao longo de 4 temporadas reprodutivas, um total de 39 placentas de éguas da raça Crioula foram coletadas. Realizadas as seguintes avaliações para obtenção de variáveis e índices: Biometria materna e fetal; Avaliação macroscópica e obtenção das medidas morfométricas da placenta; Coletas de fragmentos; Avaliação histopatológica e avaliação estereológica. Desta forma o objetivo do experimento é determinar as características morfológicas, histológicas e estereológicas da placenta a termo e cordão umbilical de éguas da raça crioula paridas no Sul do Brasil. Foi traçado um modelo de medidas lineares e foram descritas as médias histomorfométricas microcotiledonares e vasculares para este padrão de alantocórion. As medidas lineares da placenta apresentaram correlação positiva com a biometria neonatal dos potros. Na histomorfometria, os achados do corno gravídico apresentaram forte correlação positiva, sendo a área microcotiledonária com o tempo de eliminação de placenta e a área capilar com o peso do potro ao nascer. O comprimento médio do cordão foi de 54 cm, com um padrão vascular usual tipo I e um padrão de fixação na superfície alantóide dorsal. Artigo 2: “Avaliação histomorfométrica do corioalantóide na espécie equina com o uso da análise digital de imagens” Foram acompanhadas 12 éguas da raça crioula, com idade média de $8,4 \pm 4$ anos, com parto eutócico e nascimento de um único potro saudável. As placentas foram eliminadas em $25,3 \pm 10$ minutos e pesaram $4,5 \pm 0,7$ Kg. Na avaliação histológica foram observados achados característicos de placentas saudáveis a termo na espécie equina. Na avaliação digital, as imagens foram avaliadas em cores RGB com o total de pixels calibrados para μm . As quantificações da área microcotiledonar e capilar foram realizadas com a macro Color Threshold, e faixa de cores ajustada pela escala RGB. No total foram avaliadas 360 fotos. As

medidas histomorfométricas obtidas demonstraram um padrão de distribuição normal e a homogeneidade dos dados pode ser comprovada pelos baixos valores nas medidas de dispersão entre as éguas avaliadas. Pode-se concluir que o uso da análise digital de imagens para avaliação da histomorfometria microcotiledonária de placentas equinas a temo mostrou-se uma ferramenta adequada para obtenção de informações objetivas dessa estrutura. Artigo 3: “Cordão umbilical equino: características na gestação e avaliação no pós-parto”, teve o objetivo de realizar uma revisão sobre características do cordão umbilical durante a gestação em equinos, bem como descrever as principais alterações e achados casuais na avaliação deste junto à placenta e o neonato no pós-parto, desta forma agregando conhecimento e fazendo uma revisão de literatura para os experimentos. O presente trabalho alcançou os objetivos ao descrever as técnicas de análise e as medidas padrões para a morfometria e estereologia de forma inédita para a raça Crioula.

Palavras-chave: placenta; cordão umbilical; histomorfometria; microcotilédones; estereologia.

Abstract

SILVA, Gabriela Castro. **Morphometry of the allantochorion and umbilical cord of Criollo mares**. 2024. 79f. Thesis (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

The placenta is characterized as a transitional organ, formed by tissues of maternal and fetal origin, with the function of transporting nutritional substances from the maternal organism to the fetus, as well as promoting metabolic exchanges and performing endocrine functions, being responsible for the synthesis, secretion and absorption of a series of substances, including hormones, growth factors, enzymes, proteins and carbohydrates, all essential for the development of the fetus. The breeding of Criollo horses is widespread in the Americas. Information from 2016 shows that Brazil has a total of 379,957 animals, with 94.2% of this population found in the south of Brazil, in the states of Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Paraná, with the largest number of specimens in Rio Grande do Sul. Considering the great importance of the breed and the scarcity of specific information on placentation, this work aims to characterize the placenta and umbilical cord of Criollo mares in the postpartum period, considering macroscopic evaluation, histological, morphometric and stereological. Thus, three articles were written. Article 1: "Anatomorphofunctional characteristics of the allantochorion of healthy Criollo mares and their relationship with maternal and neonatal biometrics". During 4 breeding seasons, a total of 39 placentas were collected from Criollo mares. The following evaluations were carried out to obtain variables and indices: Maternal and fetal biometry; macroscopic evaluation and obtaining morphometric measurements of the placenta; collection of fragments; histopathologic evaluation and stereologic evaluation. Therefore, the objective of the experiment is to determine the morphological, histological and stereological characteristics of the full-term placenta and umbilical cord of Criollo mares foaled in southern Brazil. A model of linear measurements was developed and the microcotyledonary and vascular histomorphometric averages for this allantochorionic pattern were described. Correlations between histomorphometry and placental expulsion time, foal weight, and gestational age of the animals were established, demonstrating their influence. The average length of the umbilical cord was 54 cm, with a common type I vascular pattern and an attachment pattern on the dorsal allantoic surface. Article 2: "Histomorphometric evaluation of chorioallantois in the equine species using digital image analysis" 12 mares of the Creole breed with a mean age of 8.4 ± 4 years were followed, with eutopic birth and birth of a single healthy foal. The placentas were delivered in 25.3 ± 10 minutes and weighed 4.5 ± 0.7 kg. Histologic evaluation revealed characteristic findings of healthy, term placentas in the equine species. For digital evaluation, images were evaluated in RGB colors with the total number of pixels calibrated to μm . Quantification of the microcotyledonary and

capillary area was performed using the Color Threshold macro, and the color range was adjusted using the RGB scale. A total of 360 photographs were evaluated. The histomorphometric measurements obtained showed a normal distribution pattern and the homogeneity of the data can be demonstrated by the low values of the dispersion measurements among the mares evaluated. It can be concluded that the use of digital image analysis for the evaluation of microcotyledonary histomorphometry of equine placentas in gestation proved to be a suitable tool for obtaining objective information about this structure. Article 3: "Equine umbilical cord: characteristics during pregnancy and postpartum evaluation", aimed to carry out a review of the characteristics of the umbilical cord during pregnancy in horses, as well as describe the main changes and incidental findings in the evaluation of this together to the placenta and the newborn in the postpartum period, thus adding knowledge and conducting a literature review for the experiments. The present work achieved its objectives by describing the analysis techniques and standard measurements for morphometry and stereology in an unprecedented way for the Criollo horse.

Keywords: Placenta; umbilical cord; histomorphometry; microcotyledons; stereology.

Lista de Figuras

Artigo 1

- Figura 1 Imagem de arquivo pessoal de um alantocórion da raça Crioula, demonstrando os locais onde eram realizadas as 14 medidas lineares do alantocórion quando dispostos em uma configuração típica de F (adaptado de Whitwell&Jeffcott, 1975)..... 27
- Figura 2 Alantocórions da raça Crioula, indicando os 3 locais de fixação do cordão umbilical..... 32
- Figura 3 Alantocórions da raça Crioula, indicando os 3 tipos de cordão umbilical observados a partir da formação vascular que é resultante da convergência das artérias para o cordão umbilical equino..... 33

Artigo 2

- Figura 1 Placenta equina, disposta em formato “F” em sua face alantoideana, demonstrando sequencialmente as porções placentárias correspondentes as porções de corno gravídico (CG), corno não gravídico (CNG) e corpo uterino (CUt)..... 53
- Figura 2 Imagem digitalizada obtida a partir do segmento da porção do corno gravídico, demonstrando a característica de ramificações dos microcotilédones com aumento de 300 µm. 55
- Figura 3 Sequência de processamento digital das imagens para análise histomorfométrica da região correspondente ao corno gravídico de corionalantóide equino, com o auxílio do programa NIH ImageJ 1.48r (Instituto Nacional de Saúde dos EUA, disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). (A) Imagem inicial da lâmina histológica demonstrando o parênquima e microcotilédones corado por

hematoxilina-eosina. (B) área total microcotiledonária, ajustado na escala RGB (black) para a determinação da intensidade de cor, através do método de absorção (C) área total capilar dos microcotilédones, ajustado na escala RGB (black) para determinação da intensidade de cor a partir dos eritrócitos no epitélio coriônico, através do método de absorção..... 55

Artigo 3

Figura 1	Formação vascular placentária Tipo I, demonstrando projeção de uma artéria para corno gravídico (seta), e as outras convergindo para corpo e corno não gravídico (cabeça de seta). Figura 2. Tipo II de vasculatura placentária, demonstrando uma artéria convergindo do corno gravídico e corpo uterino (seta), enquanto as outras convergem.....	65
Figura 2	Presença de remanescente de saco vitelínico em porção média de cordão umbilical, demonstrando forma esférica.....	68
Figura 3	Placas amnióticas, presentes na porção amniótica do cordão umbilical.....	68

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Análise da raça Crioula em relação as variáveis analisadas no estudo, expressos em média \pm EPM:.....	43
Tabela 2	Análise estereotípica de 39 alantocórions de éguas da raça Crioula.....	44
Tabela 3	Correlações das variáveis histomorfométricas por porções do alantocórion e variáveis maternas, fetais e placentárias.....	45
Tabela 4	Dimensões lineares do alantocórion da égua Crioula, comparando com a Pura Sangue Inglês.....	46
Tabela 5	Medidas lineares das porções de corno gravídico e não gravídico comparadas nas raças Crioula e Puro Sangue Inglês (PSI), expressos em Média \pm EPM (cm).....	47
Tabela 6	Correlações das medidas lineares da alantocórion na raça Crioula e das variáveis idade materna, peso da alantocórion, volume total do alantocórion, área total da alantocórion, tempo de gestação e tempo de eliminação da alantocórion e as biometrias maternas da égua e neonatais.....	48

Artigo 2

Tabela 1	Área total de microcotilédones e área capilar microcotiledonária (μm^2) das placentas saudáveis da raça Crioula, expressas em Média \pm DPM e coeficiente de variação (%).....	57
----------	---	----

Lista de Abreviaturas e Siglas

C	Corpo uterino
CG	Corno Gravídico
CNG	Corno não gravídico
CU	Cordão Umbilical
PSI	Puro Sangue Inglês

Sumário

1 Introdução	14
2 Artigos	18
2.1 Artigo 1	19
2.2 Artigo 2	48
2.3 Artigo 3	60
3 Considerações Finais	71
Referências	72
Anexos	78

1 Introdução

A placenta caracteriza-se como um órgão transitório, formado por tecidos de origem materna e fetal, com a função de transportar substâncias nutritivas do organismo materno para o feto, bem como promover trocas metabólicas e desempenhar funções endócrinas, sendo responsável pela síntese, secreção e absorção de uma série de substâncias, incluindo hormônios, fatores de crescimento, enzimas, proteínas e carboidratos, todos essenciais ao desenvolvimento do feto (LEISER & KAUFMANN, 1994). A placenta da égua é classificada como epiteliocorial, difusa, microcotiledonária e adecídua (ABDELNAEIM, et al. 2006). Histologicamente a placenta é formada por uma porção alantoideana e outra coriônica, ambas oriundas do mesoderma e a invasão vascular acompanha o mesoderma alantoideano (ALLEN, 2005a).

Este órgão é caracterizado por uma face coriônica, de coloração que varia de vermelha a acastanhada, com superfície de aspecto aveludado devido à presença dos microcotilédones, e uma face alantoideana, que apresenta coloração roxa a azulada, com presença de vasos sanguíneos proeminentes (SCHLAFER, 2004). A superfície coriônica pode ser considerada como um reflexo do endométrio da égua, sendo que locais onde não há contato da placenta com o endométrio, seja por fibrose endometrial, ou compressão direta do feto sobre uma região vascular, podem resultar em áreas de avilosidades (LAUGIER, et al. 2011). O corno gravídico é maior, e possui a parede mais espessa que o corno não gravídico. A região da estrela cervical é caracterizada por ausência de vilosidades devido ao contato direto com a mucosa cervical, sendo uma importante região de avaliação no pós-parto devido a quadros inflamatórios, como placentite ascendente (LE BLANC, 2004). O âmnion caracterizase por ser uma fina membrana, com presença de proeminentes vasos sanguíneos. O cordão umbilical é responsável pelo carregamento de sangue oxigenado e nutrientes para o feto.

Como descrito por Wilsher, et al. (2011), na espécie equina, o cordão umbilical compreende uma porção proximal amniótica, a qual está coberta pelo âmnion e está ligada ao feto através do umbigo, e outra porção alantóica coberta pelo alantoide e

que está ligada ao alantocóron. A porção amniótica do cordão umbilical contém duas artérias, uma veia umbilical, o remanescente da veia vitelínica e o úraco.

Além de funcionar como um órgão de trocas metabólicas entre o feto e a mãe, a placenta, é considerada um órgão endócrino transitório. É o único meio de comunicação entre mãe e feto e, por isso, alterações na placenta podem levar a abortos, partos prematuros ou ao nascimento de neonatos não viáveis (FOWDEN & FORHEAD, 1998). A placenta é um órgão fundamental na relação materno-fetal e deve ser considerada como um reflexo das condições nutricionais, metabólicas, endócrinas e vasculares maternas. (JANSSON & POWELL, 2006). Condições que levam a insuficiência placentária, como infecções intrauterinas interferem no suprimento de nutrientes para o feto, resultando em crescimento fetal anormal e depleção das reservas de energia (KOTERBA, 1990). Estas alterações placentárias resultam em comprometimento das trocas metabólicas e gasosas entre a mãe e o feto (MARCONI et al., 1999), sendo o comprometimento fetal dependente da natureza, duração, severidade e do estágio da gestação em que ocorre (BUCCA, 2006).

Um exame rudimentar da placenta equina após o parto para verificar se está completa é usual. No entanto, um exame minucioso da placenta pode detectar anormalidades indicativas de problemas que podem influenciar a saúde neonatal, enquanto outras podem fornecer pistas sobre a saúde uterina. O exame da placenta também revelará anomalias na estrutura que podem ter influenciado sua função intra útero ou meramente refletir variação biológica (WILSHER et al., 2020)

Especificamente a área de superfície, na espessura da barreira, na densidade microcotiledonar, na densidade capilar microcotiledonar e no suprimento sanguíneo materno (SIBLEY et al 2005). Nesse contexto, torna-se evidente, como já descrito em ovinos, que a histomorfometria da área capilar do alantocóron está associada a alterações na transferência de nutrientes e oxigênio (Reynolds et al., 2006).

Esses parâmetros morfológicos desempenham um papel crucial na eficiência da troca materno-fetal, influenciando diretamente a transferência de substâncias essenciais para o desenvolvimento fetal (SIBLEY et al., 2005). A histomorfometria da área capilar no alantocóron oferece uma abordagem quantitativa valiosa para avaliar a capacidade de troca gasosa e de nutrientes, fornecendo insights

importantes sobre a função placentária em diferentes estágios da gestação e em diversas condições fisiológicas (BIANCO et al, 2014).

Observa-se que o aumento na densidade e no volume capilar desempenha um papel significativo na eficiência do transporte passivo e na funcionalidade placentária, conforme sugerido por Vallet & Freking (2007). Essa correlação mais pronunciada em outras espécies destaca a importância de compreender as características histomorfométricas específicas da placenta em diferentes contextos, contribuindo para uma compreensão mais abrangente das adaptações fisiológicas e das implicações no desenvolvimento fetal. A análise detalhada desses parâmetros morfológicos fornece insights valiosos sobre o papel da placenta na transferência eficiente de nutrientes e oxigênio durante o período gestacional (VALLET & FREKING, 2007).

Na espécie equina, a densidade microcotiledonária representa o número de microcotilédones por unidade de comprometimento da superfície do alantocóron de maneira estereológica, mais especificamente histomorfométrica, de acordo com as porções do alantocóron apresentam variações no tamanho e densidade das estruturas microcotiledonares (ALLEN et al, 2002). Cottrill e colaboradores (1991), relatam observar microcotilédones maiores e mais densos na região do corno não gravídico e no topo do corno gravídico, relatando ainda menores e mais espaçados na base do corno gravídico e no corpo uterino da placente, distribuição justificada em literatura como um padrão resultante do grande estiramento do corpo uterino e corno gravídico da placenta pelo desenvolvimento fetal além do efeito gravitacional do peso sobre a superfície de contato do endométrio com o alantocóron.

Para avaliação placentária, além da avaliação macroscópica, a histológica também nos traz informações sobre a gestação, porém só permite avaliar as estruturas em duas dimensões, sendo incapaz de quantificar características microscópicas. Métodos estereológicos, permitem a avaliação estrutural tridimensional tornando-se uma ferramenta extremamente útil para a descrição morfolométrica quantitativa sendo por técnicas de microscopia, microscopia eletrônica ou técnicas de estereologia usadas para avaliação morfolométrica da placenta equina (FERREIRA, 2011).

A análise histomorfométrica, estabelecida na avaliação da relação feto-materna em humanos, também tem sido descrita em equinos por Veronesi et al. (2010). Essa técnica, fundamentada na utilização de lâminas histológicas em

fotografias, revela-se promissora, oferecendo uma análise de imagem digital baseada em computador para amostras de tecido. Isso não apenas contribui para diminuir a subjetividade inerente às avaliações tradicionais de tecidos, mas também reduz significativamente o tempo necessário para analisar cada amostra. Ao usar essa técnica, os benefícios são múltiplos. (BIANCO et al, 2014).

A raça Crioula, conhecida por sua rusticidade e expressividade, tem uma ampla presença nas Américas. No Brasil, a população total é de 379.957 animais, com 94,2% concentrados no sul do país, especialmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. O maior contingente está no Rio Grande do Sul, conforme dados da ABCCC (2016). O cavalo Crioulo está em ascensão, destacando-se em competições nacionais e internacionais, resultado de investimentos significativos em sua criação, treinamento e comercialização. Tratando-se da placenta de éguas crioulas ainda não há literatura específica para a raça, tornando-se por este motivo o objetivo deste estudo a caracterização do alantocórion de éguas Crioulas, sua morfometria e histomorfometria, e a correlação da mesma com as características biométricas da matriz e seu respectivo potro ao nascimento.

2 Artigos

2.1 Artigo 1

Características morfofuncionais do alantocóron de éguas Crioulas saudáveis e sua relação com a biometria materna e neonatal.

Gabriela C. Silva, Carlos E.W. Nogueira, Antônio S. Varela, Rafaela A. Oliveira,
Bruna R. Curcio

Será submetido à revista: Theriogenology

Características morfofuncionais do alantocóron de éguas Crioulas saudáveis e sua relação com a biometria materna e neonatal.

Gabriela C. Silva ^{1*}, Carlos E.W. Nogueira¹, Antônio S. Varela², Rafaela A. Oliveira¹,
Bruna R. Curcio¹.

¹ Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Departamento de Reprodução Animal Comparada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal De Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

*Co-correspondent authors: gabicastrovini@gmail.com and curciobruna@hotmail.com

Pelotas/RS, BR

Resumo

O estudo descreveu as características morfológicas, histológicas e estereológicas da alantocóron a termo e cordão umbilical de éguas sadias da raça Crioula e sua relação com a biometria materna e neonatal. Foram coletadas um total de 39 alantocórons de éguas Crioulas (8±4 anos). Após o parto os alantocórons foram pesados, dispostos em F para macroscopia e fotografadas para estereologia. Realizadas 14 medidas lineares para morfometria. Foi determinado o tipo de padrão vascular e o local de fixação do cordão umbilical. Medidas biométricas maternas e do neonato foram realizadas. Imagens digitais das alantocórons foram processadas usando o software NIH ImageJ determinando as histomorfometrias. Os resultados foram expressos como média ± EPM. A paridade influenciou o tempo de eliminação da alantocóron (0,003). Medidas lineares: ATP=113,38±1,56; CTP=88,38±1,69; AAP=54,87±1,32; CCNG=55,38±1,62; DMCG=19,08±0,5; DECG=22,46±0,63;

CCG=57,72±1,23; DECNG=19,83 ± 0,53; DMCNG=19,83±0,53; LFC=33,74±0,65; LMG=31,96±0,54; LPC=32,74±0,74; CCU=54,09±1,31 e CP=32,31±0,99. Observou-se correlações positivas entre área microcotiledonária CG e o tempo de eliminação ($r=0,69$, $p=0,02$), área capilar microcotiledonária do CG e o peso do potro ($r=0,59$, $p=0,04$), área microcotiledonária do CNG e o TG ($r=0,61$, $p=0,04$). LPC foi significativa ($p=0,0003$) e teve correlações entre CCNG foi significativo tanto na circunferência torácica do potro ($r=0,43$; $p=0,03$) e altura do potro ($r=0,47$; $p=0,01$), CCU e circunferência torácica do potro ($r=0,46$; $p=0,02$) e a LPC com o peso ($r=0,4$; $p=0,04$). O estudo apresentou informações inéditas sobre as características morfométricas para a raça Crioula, tendo o comprimento médio do cordão foi de 54 cm, sendo o padrão vascular tipo I de fixação dorsal do cordão umbilical.

Abstract

The study described the morphological, histological and stereological characteristics of the term and umbilical cord allantois of healthy Criollo mares and their relationship with maternal and neonatal biometry. A total of 39 allantoions were collected from Criollo mares (8±4 years old). After giving birth, the allantochorions were weighed, arranged in Fs for macroscopy and photographed for stereology. Fourteen linear measurements were taken for morphometry. The type of vascular pattern and the site of umbilical cord attachment were determined. Maternal and neonate biometric measurements were taken. Digital images of the allantocortions were processed using NIH ImageJ software to determine histomorphometry. The results were expressed as mean ± SEM. Parity influenced allantoochorion elimination time (0.003). Linear measurements: ATP=113.38±1.56; CTP=88.38±1.69; AAP=54.87±1.32; CCNG=55.38±1.62; DMCG=19.08±0.5; DECG=22.46±0.63; CCG=57.72±1.23; DECNG=19.83 ± 0.53; DMCNG=19.83±0.53; LFC=33.74±0.65; LMG=31.96±0.54; LPC=32.74±0.74; CCU=54.09±1.31 and CP=32.31±0.99. Positive correlations were observed between CG

microcotyledonary area and elimination time ($r=0.69$, $p=0.02$), CG microcotyledonary capillary area and foal weight ($r=0.59$, $p=0.04$), CNG microcotyledonary area and TG ($r=0.61$, $p=0.04$). LPC was significant ($p=0.0003$) and correlations between NCC were significant for both foal chest circumference ($r=0.43$, $p=0.03$) and foal height ($r=0.47$, $p=0.01$), UCC and foal chest circumference ($r=0.46$, $p=0.02$) and LPC with weight ($r=0.4$, $p=0.04$). The study provided unprecedented information on morphometric characteristics for the Criollo breed, with an average cord length of 54 cm and a type I vascular pattern of dorsal attachment of the umbilical cord.

1. Introdução

O alantocóron é um órgão transitório e complexo com uma multiplicidade de variações das estruturas entre as espécies de mamíferos. Ele tem como função o transporte de substâncias nutritivas do organismo materno para o feto, bem como promover trocas metabólicas e desempenhar funções endócrinas, sendo responsável pela síntese, secreção e absorção de uma série de substâncias, incluindo hormônios, fatores de crescimento, enzimas, proteínas e carboidratos, todos essenciais ao desenvolvimento do feto [1]. Na espécie equina é classificada como epiteliocorial difusa e microcotiledonar, e quaisquer deficiências na função placentária podem ser refletidas em déficits correspondentes de crescimento e maturação fetal [2].

Este órgão é caracterizado por uma face coriônica, de coloração que varia de vermelha a acastanhada, com superfície de aspecto aveludado devido à presença dos microcotilédones, e uma face alantoideana, que apresenta coloração azulada, com presença de vasos sanguíneos proeminentes [3]. A face coriônica é a principal porção do reflexo da relação materno-fetal devendo ser considerada como um reflexo das condições nutricionais, metabólicas, endócrinas e vasculares maternas. Sendo imprescindível uma alantocóron

saudável para desenvolvimento e sobrevivência fetal, o que podemos observar na avaliação macroscópica da alantocórion no pós-parto [4].

Para avaliação do alantocórion, além da avaliação macroscópica, a histológica também nos traz informações sobre a gestação, porém só permite avaliar as estruturas em duas dimensões, sendo incapaz de quantificar características microscópicas. Métodos estereológicos como histomorfometria, permitem a avaliação estrutural tridimensional tornando-se uma ferramenta extremamente útil para a descrição morfométrica quantitativa sendo por técnicas de microscopia, microscopia eletrônica ou técnicas de estereologia usadas para avaliação morfométrica do alantocórion equino [5]. Esta análise da alantocórion é bem estabelecida para avaliar a relação feto-materna em humanos [6], e foi descrito em equinos [7].

Quando nos referimos as características morfológicas do alantocórion equino, mais especificamente caracterizamos a área de superfície, espessura da barreira, densidade microcotiledonar e capilar microcotiledonar [8,9]. Neste contexto já é observada de forma mais marcante em suínos e ovinos a histomorfometria de área capilar de alantocórion associada as mudanças na transferência de nutrientes e oxigênio [10, 11]. Desta forma o aumento de densidade e volume capilar seriam responsáveis por uma maior eficiência do transporte passivo e funcionabilidade placentária [12].

Na espécie equina, a densidade microcotiledonária representa o número de microcotilédones por unidade de comprometimento da superfície do alantocórion. De maneira estereológica, mais especificamente histomorfométrica, se observa de acordo com as porções do alantocórion variações no tamanho e densidade das estruturas microcotiledonares por porção [13,14]. Estas análises, demonstram as modificações morfológicas do alantocórion durante o período gestacional [15].

A raça Crioula é uma importante raça de cavalos no Brasil, amplamente difundida nas Américas, com cerca de 460 mil cavalos registrados até 2019 [16]. Raça que está em crescente desenvolvimento, associada a um impacto econômico positivo, mostrando valor socioeconômico substancial gerando empregos no Brasil [17]. Cada vez mais a raça faz uso de técnicas reprodutivas para seu aprimoramento, mesmo assim, poucos estudos demonstram as particularidades placentárias de éguas da raça crioula, em especial as relações entre as características macroscópicas, histológicas e estereológicas. Estudos expressivos podem ser encontrados em outras raças, como Puro Sangue Inglês [2], Standardbreds [18], Warmbloods [19,20], Pôneis [13] e raça Árabe [21]. Ainda é importante descrever as características anatomorfológicas placentárias da raça, para em um futuro comparar as amostras de gestações com biotecnias reprodutivas [22].

Desta forma o presente estudo objetiva descrever as características anatomorfológicas e estereológicas de alantocórions e cordão umbilical de alantocórions a termo e de éguas da raça crioula saudáveis e a sua relação com biometrias maternas e neonatal.

2. Materiais e métodos

2.1. População utilizada no estudo

Foram avaliadas 39 alantocórions saudáveis de éguas da raça Crioula provenientes de 2 criatórios no Sul do Rio grande do Sul, estes animais eram alocados no Centro de experimentação e equino cultura da palma (-31.801164,-52.510442) e ainda provenientes de um criatório particular do município de Rio Grande-RS (-32.004372,-52306895). Ainda apenas com intuito da comparação de medidas lineares uma segunda amostragem de 16 alantocórions éguas da raça Puro-Sangue Inglês provenientes de criatório particular do município de Bagé-RS (-31.6004539, 54.1813143).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPel sob o número 325942020. Todas as éguas crioulas do estudo foram submetidas ao acompanhamento do ciclo e inseminação artificial em data conhecida. Quando completavam 300 dias de gestação, as éguas eram submetidas a biometria e iniciada o monitoramento diário, para identificação da proximidade do parto e realizar o acompanhamento do mesmo e coleta imediata da alantocórion em seu momento de expulsão.

Os critérios para inclusão dos alantocórions no estudo foram: Tempo de gestação entre 320-365 dias, parto com a égua em decúbito lateral, alantocórion rompido naturalmente, potro em apresentação anterior, posição dorso-sacra e postura estendida, sem necessidade de intervenção, ruptura natural do cordão umbilical, expulsão da alantocórion em até 3 horas e potro saudáveis. Quinze minutos após o nascimento, os potros foram submetidos a um exame físico como parte do protocolo de rotina. Todos os animais exibiram um exame físico sem alteração, respostas adaptativas e reflexos neuroposturais nos tempos esperados, assim com características hematológicas dentro dos padrões fisiológicos para o momento pós-parto [22,23].

2.2. Biometria materna e neonatal

As medidas maternas foram realizadas entre 300-310 dias de gestação e as neonatais nas primeiras 4 horas de vida. Com o auxílio de balança digital foi obtida a variáveis peso/qs materna e fetal e a partir de fita métrica comercial, foram obtidas as variáveis altura e circunferência torácica materna e fetal, e a partir desses calculados os índices: peso-égua/peso-potro e peso-alantocórion/peso-potro. As avaliações foram realizadas por um mesmo avaliador treinado.

2.3. Avaliação macroscópica da alantocórion

Logo após a expulsão as alantocórions foram pesadas e disposta em formato “F” para avaliação macroscópica. Sendo ambas as faces, alantoideana e coriônica, avaliadas em busca

de alterações de coloração, espessamento, presença de secreções e áreas de avilositades [3]. Para avaliação da superfície alantoideana foi posicionada lateralmente uma fita métrica convencional lateralmente posicionada para realizar a foto e posterior avaliação digital das imagens utilizando o programa NIH ImageJ software, para cálculo da área total do alantocórion. Com a mesma fita métrica comercial, visualizando a superfície alantoideana, foram realizadas 14 medidas lineares da alantocórion adaptadas do descrito originalmente por [23, 2]. A primeira medida realizada foi a altura total da alantocórion (ATP) na sequência, o comprimento total da alantocórion (CTP), altura da estrela cervical ao corno não gravídico (AAP), comprimento do corno não gravídico (CCNG), diâmetro médio do corno gravídico (DMCG), diâmetro de entrada do corno gravídico (DECG), comprimento do corno gravídico (CCG), diâmetro de entrada corno não gravídico (DECNG), diâmetro médio do corno não gravídico (DMCNG), largura frontal do corpo da alantocórion (LFC), largura média do corpo da alantocórion (LMC), largura posterior do corpo da alantocórion (LPC), comprimento do cordão umbilical (CCU) e curvatura da alantocórion (CP) (Fig. 1). O cordão umbilical foi classificado quanto ao tipo I, II ou III, a partir da formação vascular que é resultante da convergência das artérias para o cordão equino e ainda quanto ao seu local de fixação, sendo fixado na superfície alantóide de forma dorsal (em relação a égua) e ao redor da bifurcação dos cornos placentários em sua curvatura ou fixação dorsoventral, sendo está na região da bifurcação na curvatura dos cornos ou situada mais adiante em um dos cornos sendo este gravídico ou não gravídico. Essa classificação foi realizada de acordo com a descrição de [25,21].

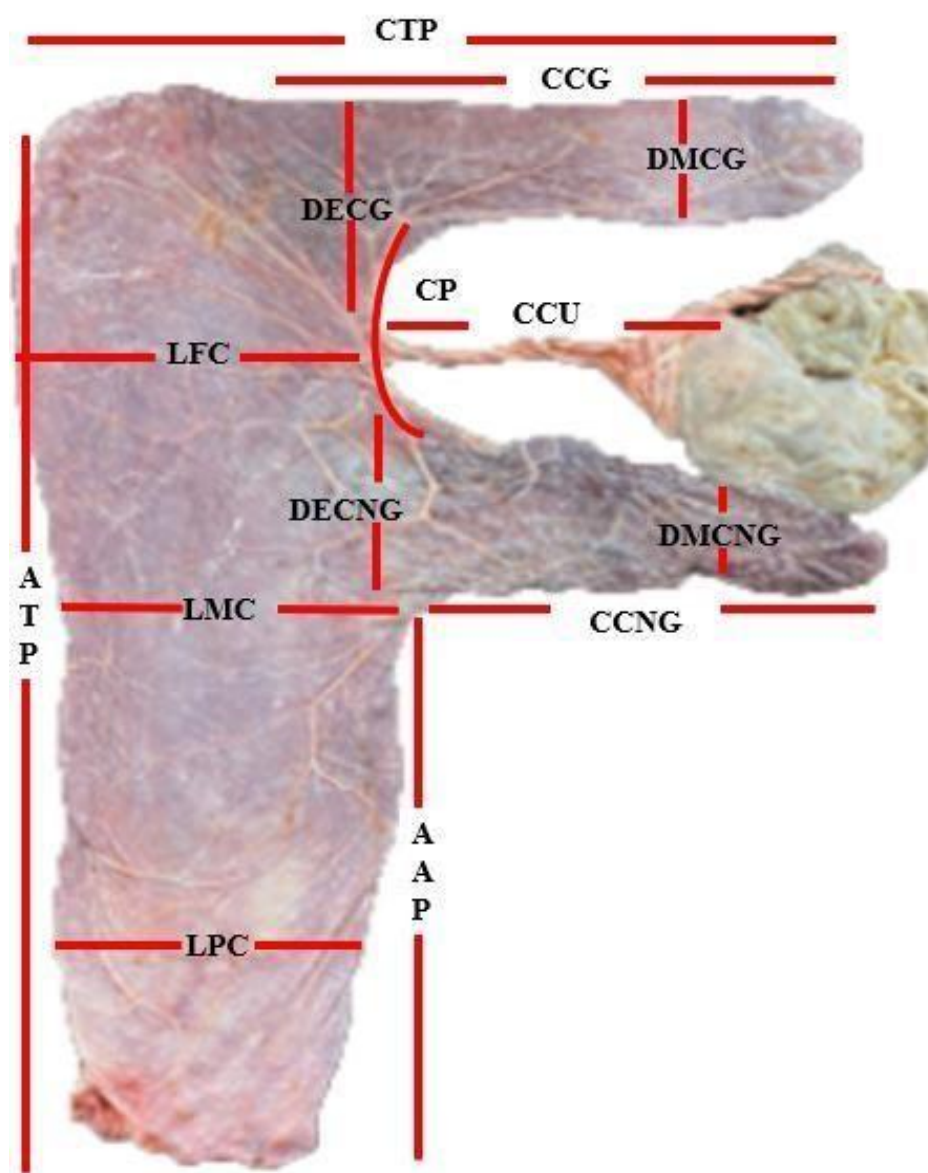


Fig. 1. Imagem do arquivo pessoal de um alantocórion da raça Crioula, demonstrando os locais onde eram realizadas as 14 medidas lineares do alantocórion quando dispostos em uma configuração típica de F típica (adaptado do estudo de Whitwell e Jeffcott [22]). (ATP- Altura total da alantocórion; CTP- Comprimento total da alantocórion; AAP- Altura anterior da alantocórion; CCNG- Comprimento corno não grávidico; DMCG- Diâmetro médio corno grávidico; DECG- Diâmetro de entrada corno grávidico; CCG- Comprimento corno grávidico; DECNG- Diâmetro de entrada corno não grávidico; DMCNG- Diâmetro médio

cornos não gravídicos; LFC- Largura frontal do corpo; LMC- Largura média do corpo; LPC- Largura posterior do corpo; CCU- Comprimento total do cordão umbilical e CP- Curvatura da alantocórion.).

Foram avaliadas fotos de 16 alantocórions provenientes de éguas da raça Puro Sangue Inglês (PSI), com objetivo de comparação das medidas lineares das alantocórions

2.4. Avaliação histopatológica

De cada alantocórion foram colhidos fragmentos placentários de “3x3”cm do corpo uterino, corno gravídico, corno não gravídico, estrela cervical, bifurcação, âmnion e cordão umbilical. Os fragmentos foram armazenados em solução de formalina tamponada 10% durante 24 horas para fixação, sendo posteriormente, transferidos para álcool 70°. Após processamento foram realizados cortes de 3-5µm montados sobre lâminas, desparafinizados, hidratados e corados pelo método do hematoxilina-eosina. As lâminas foram avaliadas por microscopia de luz, e seus cortes examinados segundo análise descrita por Hong (1993) [26].

2.5. Avaliação estereológica

2.5.1. Área e volume

Fragmentos 4x4cm de três porções da alantocórion (corpo uterino, corno gravídico e corno não gravídico) foram realizados para estimar o volume de superfície total de cada região conforme adaptado de Meirelles e colaboradores [27]. Neste protocolo os fragmentos foram colocados em uma proveta de 2 litros, completa com 1 litro de água destilada onde o fragmento era colocado e deslocava o líquido, desta forma era obtido a informação de volume deslocado. O volume total do alantocórion foi estimado através da fórmula $V = \frac{\text{peso total alantocórion}}{\text{volume deslocado}}$ foi possível calcular os volumes de cada fragmento.

Assim foram mensurados os volumes de CN (Vcn), CNG (Vcng) e C (Vc) que somados compõem a variável volume total (Vtotal) [26]. Ainda esta avaliação formou o índice: área alantocórion/peso potro.

As imagens dos alantocórions foram digitalizadas para a realização de sua avaliação usando o software NIH ImageJ para calcular através do traçado do desenho em formato de F placentário a área total de cada alantocórion [13].

2.5.2. Avaliação da histomorfometria placentária

A partir das lâminas histológicas foram obtidas as imagens digitalizadas de todas as porções amostradas a partir dos segmentos do corpo uterino, corno grávidico e não grávidico, utilizando uma câmera de alta resolução Olympus DP72 acoplada ao microscópio Olympus BX51 (Olympus América, Center Valley, PA), com aumento de 100x.

Posteriormente, as imagens digitais foram processadas através do software de código aberto NIH ImageJ 1.48r (Instituto Nacional de Saúde dos EUA, disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). A histomorfometria concentrou-se na área microcotiledonar e área capilar dos microcotilédones, ambas avaliadas no epitélio coriônico da corioalantóide. As imagens foram analisadas em cores RGB, com a totalidade dos pixels calibrados para μm . A quantificação da área/campo microcotiledonário e capilar foi realizada utilizando a macro "Color Threshold", ajustando a faixa de cores conforme a escala RGB. Diferenças na intensidade da cor foram analisadas através do método de absorção diferencial (fig. 3).

Em situações em que não havia eritrócitos nos capilares, a correção das medidas da área/campo capilar foi realizada por meio do plug-in "Freehand". A área do campo (ampliação de 100x) para aquisição de imagens digitalizadas foi fixada em $154,674 \mu\text{m}^2$. A

mensuração do menor diâmetro da rede microcotiledonar foi realizada através da amostragem de 5 por 10 em cada porção avaliada do tecido placentário. Essa abordagem meticulosa proporciona uma análise detalhada dos parâmetros histomorfométricos, permitindo a compreensão aprofundada do desenvolvimento das vilosidades na alantocórion equina.

No total foram analisadas 117 lâminas de 3 área das alantocórions, provenientes de 39 éguas. Cada lâmina era avaliada em 10 diferentes campos, perfazendo um total de 1170 observações.

2.7. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistix[®] 10.0 (Analytical Software, 2008). Foi realizada estatística descritiva e os dados apresentados em média \pm EPM. As variáveis quantitativas foram submetidas a análise de variância e comparação entre as médias pelo teste LSD. Foi realizado o teste de Pearson para avaliar a correlação entre as medidas lineares da alantocórion e as biometrias maternas e neonatais, volume, área e os índices gerados nesse estudo.

3. Resultados

As éguas tiveram idade média de $8,54 \pm 0,71$ anos (4-21 anos), sendo todas as gestações saudáveis, gerando produtos viáveis com a finalidade de criação. As análises das variáveis do estudo para raça crioula foram descritas na Tabela 1.

3.1. Avaliação Macroscópica

Todas os alantocórions do estudo, foram eliminados com a superfície alantóide exteriorizada. Sendo nestes, observado corno gravídico era mais edematoso, espessado e

maior em sua ponta do que o corno não grávidico. A presença de restos dos cálices endometriais, estavam presentes nas superfícies alantóides de 2/39 (5,1%) alantocórions examinadas; estes foram localizados nas proximidades coriônicas do cordão e no corno grávidico.

A superfície coriônica do alantocórion mostrou variação na cor de suas vilosidades, variando de um vermelho aveludado a um vermelho amarronzado mais escuro e acredita-se ser indicativo de diferenças na drenagem de sangue dos microcotilédones, e na superfície alantóide havendo um aspecto liso de coloração azulada contendo vasos proeminentes. Dividindo a alantocórion em áreas observamos estas variações de coloração castanho-amarronzado ou incolor, sendo estas em: corno grávidico (6/39; 15,4%); corno não grávidico (8/39; 20,5%) e corpo da alantocórion (5/39; 12,8%). Ainda observamos que o corno grávidico estava mais comumente no lado direito do útero do que no esquerdo (38/39, 97,4%), mas o lado do corno grávidico não estava relacionado à idade ou paridade da égua, duração da gestação ou sexo fetal ($p > 0,05$, em todos os casos).

A fixação do cordão umbilical foi observada na superfície alantóide de forma dorsal (em relação a égua) e ao redor da bifurcação dos cornos placentários em sua curvatura ($n=30/39$; 76,9%) (fig.2 A) ou fixação dorsoventral, sendo está na região da bifurcação na curvatura dos cornos ($n= 7/39$; 17,9%) (fig. 2 B) ou situada mais adiante em um dos cornos sendo este grávidico ou não grávidico ($n=2/39$; 5,1%) (fig. 2 C). Ainda quando analisamos os tipos de cordão umbilical observamos maioria de cordões umbilicais tipo I observado 66,6% (26/39), tipo II foi observado em 25,6% ($n=10/39$) e tipo III em 7,7% ($n=3/39$) das alantocórions (fig. 3). Por fim o tipo de cordão umbilical não demonstrou ter relação com o seu comprimento (CCU) ou com a paridade materna.

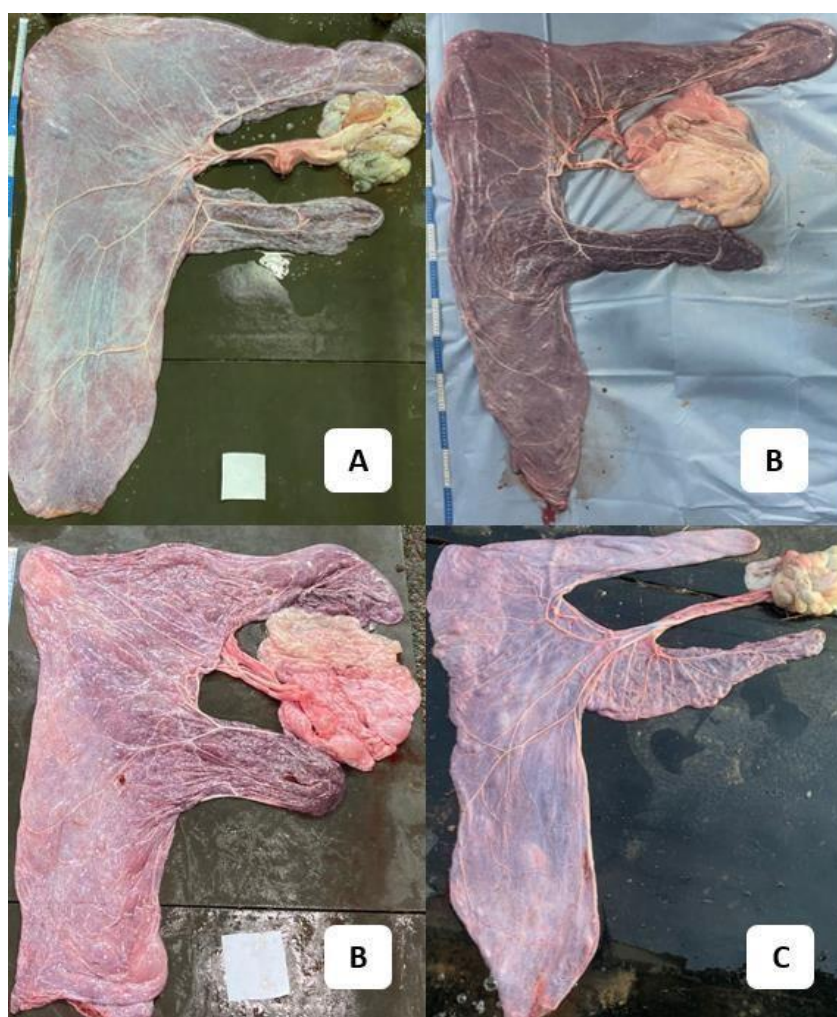


Fig. 2. Alantocórions da raça Crioula, indicando os 3 locais de fixação do cordão umbilical, sendo A: fixado na superfície alantóide de forma dorsal (em relação a égua) e ao redor da bifurcação dos cornos placentários em sua curvatura, B: fixado de maneira dorsoventral, sendo está na região da bifurcação na curvatura dos cornos ou C: situada mais adiante em um dos cornos sendo este grávidico ou não grávidico.



Fig. 3. Alantocórons da raça Crioula, indicando os 3 tipos de cordão umbilical observados a partir da formação vascular que é resultante da convergência das artérias para o cordão umbilical equino. O tipo I no qual uma artéria converge do corno grávidico, enquanto as outras estão distribuídas no corpo e corno não grávidico da alantocórion [24]. O tipo onde uma artéria saindo do corno grávidico e corpo uterino, enquanto as outras convergem do corno não grávidico e o tipo III no qual uma artéria converge do corno grávidico e não grávidico, e da maior parte do corpo do útero, e outra se prolonga da curvatura dorsal do corpo uterino [24].

3.3. *Análise estereológica*

3.3.1 *Área e volume do alantocórion*

Na análise estereotípica dos alantocórons das éguas crioulas (tabela 2), destaca-se o valor observado na relação criada $V_{total}\text{-peso potro } 7,36 \times 10^3 \pm 3,45 \times 10^3$.

3.3.2 *Análise Histomorfométrica*

Foram observadas as seguintes áreas (médias \pm EPM) nas histomorfometrias: Área microcotiledonar total e área capilar microcotiledonar por porção: corno grávidico ($4,685 \times 10^6 \pm 102124 \mu\text{m}^2$; $158925 \pm 44911 \mu\text{m}^2$), corno não grávidico ($3,04 \times 10^6 \pm 389885 \mu\text{m}^2$; $116620 \pm 3359 \mu\text{m}^2$) e corpo uterino ($3,18 \times 10^6 \pm 58069 \mu\text{m}^2$; $123801 \pm 1678 \mu\text{m}^2$). Ainda observadas correlações positivas (Tabela 3) entre área microcotiledonária do corno grávidico e o tempo de eliminação da alantocórion ($r=0,69$, $p=0,02$), área capilar microcotiledonária do corno grávidico e o peso do potro ($r=0,59$, $p=0,04$), área microcotiledonária do corno não grávidico e o tempo de gestação ($r=0,61$, $p=0,04$).

3.5. Avaliação das Dimensões Lineares

Todas as medições em éguas Crioulas, exceto para o comprimento total da alantocórion; diâmetro médio do corno grávidico; diâmetro de entrada do corno grávidico; diâmetro médio do corno não grávidico e largura posterior do corpo da alantocórion, foram menores do que a medição equivalente para a raça Puro Sangue Inglês, sendo que apenas o diâmetro médio do corno não grávidico foi maior nas alantocórions de éguas crioulas (Tabela 4).

Quando avaliadas as diferenças entre as medidas lineares entre as porções dos cornos grávidicos e não grávidicos dentro de cada raça, foram observadas algumas diferenças (Tabela 5). Sendo encontradas diferenças nas proporções em relação as medidas nos cornos nas diferentes raças.

Quando correlacionadas as medidas lineares da alantocórion da raça Crioula, observamos que o comprimento do corno não grávidico foi significativo tanto na circunferência torácica do potro ($r=0,43$; $p=0,03$) como na altura do potro ($r=0,47$; $p=0,01$) demonstrado que esta medida linear influencia o tamanho do potro ao nascimento. O comprimento do cordão umbilical também foi maior a partir da circunferência torácica do

potro ($r=0,46$; $p=0,02$). Ainda a largura posterior do corpo uterino da alantocóron teve correlação com o peso total da mesma ($r=0,4$; $p=0,04$) (Tabela 6).

4. Discussão

As médias morfométricas do alantocóron na raça Crioula nas porções corno gravídico, corno não gravídico e corpo, se correlacionam diretamente com a biometria do potro ao nascimento, tendo maior altura e circunferência torácica ao nascimento. Ao mesmo tempo que as medidas histomorfométricas da área microcotiledonária e área capilar microcotiledonária do corno gravídico se correlacionaram respectivamente com o tempo de gestação das éguas e o peso do potro ao nascimento. Corroborando com pesquisas conduzidas por Wilsher e Allen (2012) [27], que apontam para uma correlação positiva entre a área da alantocóron, densidade microcotiledonária e o peso do potro, demonstrando a influência das medidas lineares e histomorfométricas no desenvolvimento neonatal, desta forma a partir de uma maior área e densidade microcotiledonária se observa uma maior troca de gases e nutrientes resultando em um maior desenvolvimento neonatal obtendo nascidos com incremento em suas medidas biométricas [2].

Ainda as medidas lineares dos alantocórons fornecem uma visão geral, um mapa do útero durante a gestação e caracterizam morfologicamente os envoltórios [21]. As diferenças nas médias das medidas lineares do alantocóron da raça crioula serem em sua maioria menores que para raça PSI, não surpreendem, uma vez que o tamanho de um equino condiz com seu tamanho uterino e por sua vez tamanho placentário [2].

Ainda foram observadas correlações entre as biometrias materna e do neonato e a área total da alantocóron com as medidas lineares, o qual é descrito para outras raças [13]. Estas correlações positivas foram observadas nas variáveis circunferência torácica altura, e peso do potro, área total da alantocóron e altura da égua, corroborando o estudo Allen e

colaboradores [13], que sugerem que as características maternas afetariam o potro de maneira significativa no pós-parto.

Na espécie equina, a densidade microcotiledonária diz respeito ao número e comprimento microcotiledonar na superfície do alantocórion. Do ponto de vista histológico e estereológico, a alantocórion equina exibe variações no tamanho e densidade dessas estruturas, dependendo da região do alantocórion [13]. Em nossa pesquisa, observamos maiores médias de área total microcotilédonária e área vascular de microcotilédones na porção do corno grávidico, seguida de corpo uterino e após corno não grávidico da alantocórion da alantocórion. Na região de corpo grávidico, também constatamos maiores médias de medidas lineares na raça Crioula, em comparação com a raça PSI. Em outras espécies, como suínos e ovinos, as diferentes raças estão associadas a alterações na densidade capilar [10,11]. Ainda as correlações positivas entre área microcotiledonária do corno grávidico e o tempo de eliminação da alantocórion, área capilar microcotiledonária do corno grávidico e o peso do potro e a área microcotiledonária do corno não grávidico e o tempo de gestação justificam a eficiência placentária uma vez que quanto maior a área total e capilar microcotiledonária maiores são as trocas hormonais e de nutrientes [2].

Cottrill e colaboradores [14] observaram, em seu estudo, microcotilédones maiores e mais densos na porção alantoideana do corno não grávidico, enquanto na porção uterina e no corno grávidico identificaram microcotilédones menores e mais espaçados. Estes resultados contrastam com as médias obtidas em nossa pesquisa para a raça Crioula. Nossa hipótese é que na raça Crioula, onde identificamos uma maior área total no corno grávidico, pode ter ocorrido um menor estiramento dessa região, de acordo com o crescimento fetal, sem influenciar na densidade microcotiledonária, a qual se comprovou ao analisarmos de forma separada as porções de corno grávidico (DMCG, DECG e CCG) e corno não grávidico (DMCNG, DECNG e CCNG).

Allen e colaboradores [13], mostraram que, em equinos, a taxa e a extensão do crescimento fetal dependem da área bruta do alantocórion, densidade, complexidade e profundidade dos microcotilédones, controlados pela interação do tamanho materno com os genótipos materno e fetal. Dado que corrobora com nossos resultados uma vez que ao avaliar as correlações das medidas histomorfométricas da raça crioula, observamos correlação positiva entre a área capilar microcotiledonária do corno gravídico e o peso do neonato ao nascimento ($r=0,69$; $p=0,04$) e entre a área microcotiledonária total do corno não gravídico e o tempo de gestação ($r=0,61$; $p=0,04$), uma vez que um ambiente uterino saudável predispõe a uma maturação total do neonato, podendo nascer com um maior peso [4].

Como já descrito por outros autores, em nosso estudo também encontramos um grande percentual de gestações onde o corno gravídico estava mais comumente no lado direito do útero do que no esquerdo (38/39, 97%), dado que corrobora com o já descrito por outros autores

[28,29]. A razão para esta predominância não é clara, porém autores já relaram que mesmo a espécie equina seja considerada tendo um útero simétrico, observaram que o diâmetro do corno direito seria maior em éguas não prenhas [30,24]. Ainda no presente estudo, o local de fixação do cordão para a raça Crioula, apresentou diferentes localizações, mas tendo como principal local de fixação a bifurcação dos cornos da alantocórion ($n=30/39$; 82%), dado que corrobora para o já descrito em outras raças como o PSI, Standardbred e Árabe [22, 28,21].

O comprimento do cordão umbilical dos animais Crioulos encontrados neste estudo teve uma média de 54,1 cm de comprimento. Esta média se demonstra próxima da de 52,8 cm relatada para a raça Árabe [21]. Ainda ambas as raças já mencionadas apresentam comprimento do cordão umbilical acima das médias observadas para raça PSI com média de 48,2 cm encontrados neste estudo, valor que corrobora com os 47,6 cm descritos por Pazinato e colaboradores [31], para a raça.

Sobre o tipo de cordão: 66,6 % dos animais demonstraram tipo I, o tipo II de cordão foi identificado em 25,6% e o tipo III foi identificado em 7,6% das alantocórians. Dado que corrobora com o que foi já observado em literaturas, descrevendo o tipo I como o mais comumente encontrado, o tipo II perfaz de 20 a 23% de incidência e o tipo III raramente sendo encontrado [25]. Ainda o cordão tipo III previamente descrito como resultante de quadros gemelares onde há redução manual de um dos gêmeos, o que não ocorreu em nosso estudo [23]. De mesma forma que em nosso estudo Whitwell (1975) [23] não conseguiu encontrar uma correlação entre o comprimento total do cordão, sexo e peso corporal dos potros, idade e paridade da mãe, ou com a área de superfície, largura ou comprimento do alantocórian.

Em nosso estudo a paridade materna foi significativa no volume total da alantocórian e no índice peso égua/peso potro, mesmo que com pequena diferença numérica, ambos sendo maiores nas éguas com 2 ou mais partos. Dado que corrobora com a literatura, visto que nestes trabalhos avaliam em conjunto paridade e a idade materna, demonstrando que estas variáveis afetam o desenvolvimento fetal e placentário. Ainda corroborando com que observamos entre o DECG-área total da alantocórian e a idade materna- área total da alantocórian, observando éguas mais velhas tendo potros menores. Isso pois, em literatura, já se demonstra a influência desfavorável de alterações endometriais degenerativas relacionadas à idade no desenvolvimento dos microcotilédones e na superfície de trocas hematológicas na interface materno-fetal. Desta forma, correlacionando o tamanho e peso do potro como já descrito em outras raças, observa-se os mesmos resultados [32].

A partir do peso dos anexos fetais e o peso neonatal, observou-se neste trabalho para a raça Crioula uma relação de 10%, porcentagem esta semelhante a já descrita para a raça PSI, onde a relação entre o peso da alantocórian e o peso dos potros ao nascimento foi de 11%, observando uma relação linear entre essas variáveis [22].

5. Conclusão

Foi realizada de forma inédita a caracterização do alantocórion a termo e do cordão umbilical de éguas saudáveis da raça Crioula, se traçou um modelo de medidas lineares e foram descritas as médias histomorfométricas microcotiledonares e vasculares para este padrão de alantocórion. Observou-se correlações entre as histomorfometrias e o tempo de eliminação da placenta, peso do potro, e o tempo de gestação dos animais comprovando sua influência. Ainda descreveu o comprimento médio do cordão foi de 54 cm, seu padrão usual vascular tipo I e padrão de fixação na superfície alantóide dorsal.

6. Referências

- [1] Leiser R, Kaufmann, P. Placental structure: in a comparative aspect. *Experimental and Clinical Endocrinology*. 1994; v. 102, n. 3, p. 122-134.
- [2] Wilsher S, Allen W. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. *Equine Vet. J.* 2003; 35, 476- 483
- [3] Schlafer DH. Postmortem examination of the equine placenta, fetus, and neonate: Methods and interpretation of findings. *Proceedings of the American Association on Equine Practitioners* 2004; 50, 144-161.
- [4] Jansson T, Powell TL. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? A review. *Placenta*, 1993; v.27, p.91-97.
- [5] Ferreira, A. A.; Krause, C. I.; Costa, M. H.; Rivero, E. R. C.; Tarquínio, S. B. C. An image processing software applied to oral pathology. *Pathology – Research and Practice*. v. 207, p. 232-235, 2011
- [6] Higgins M, Felle P, Mooney EE, Bannigan J, McAuliffe Fm. Stereology of the placenta in type 1 and type 2 diabetes. *Placenta* 2011; 32: 564–569.
- [7] Veronesi MC, Villani M, Wilsher S, Contri A, Carluccio A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. *Theriogenology* 2010; 74(4): 627-631

- [8] Sibley CP, Turner MA, Cetin I, Ayuk P, Boyd CAR, D'Souza SW, Grazier TC, Greenwood, SL, Jasson T, Poweel T. Placental phenotypes of intrauterine growth. *Pediatric Research*, 2005 v, 58; p.827-832.
- [9] Hay WW. Regulation of placental metabolism by glucose supply. *Reproduction Fertility Development*, 1995, v.7, n.3, p 365-375.
- [10] Wilson ME, Ford SP. Comparative aspects of placental efficiency. *Reproduction*, 2001, v.58, p. 223-232.
- [11] Reynolds LP, Caton JS, Redmer DA, Grazulbilska AT, Vonnahme KA, Borowicz PP, Luther JS, Wallace JM, Wu G, Spencer TE. Evidence for altered placental blood flow and vascularity in compromised pregnancies. *The Journal of Physiology*, 2006, v.572, p.51-58.
- [12] Vallet JL, Freking BA. Differences in placental structure during gestation associated with large and small pig fetuses. *The Journal of Animal Science*, 2007, v.85, p. 3267-3275.
- [13] Allen WR, Wilsher S, Turnbull C, Stewart F, Ousey J, Rossdale PD, et al. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse: I. Development in utero. *Reproduction* 2002;123:445 e 453.
- [14] Cottrill CM, Jeffers-Lo J, Ousey JC, McGladdery AJ, Ricketts SW, Silver M, Rossdale PD. The placenta as a determinant of fetal wellbeing in normal and abnormal pregnancies. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1991, v. 44, p. 591-601.
- [15] Salazar-Petres E, Pereira C D.; Lopes T J.; Sfereuzzi-perri A. N. Placental structure, function, and mitochondrial phenotype relate to fetal size in each fetal sex in mice. *Biol Reprod.*, 2022, v.106, p.1292-1311.
- [16] Associação Brasileira de Criadores de cavalo. Regulamento do Registro Genealógico da Raça Crioula. Disponível em: Acesso em: 06 de janeiro de 2022.
- [17] Lima RAS, Cintra AG, Estudo do Complexo do Agronegócio do cavalo. Brasília: Ministry of Livestock Farming and Food Supply of Brazil: 2016; 56p.
- [18] Robles M, Peugnet PM, Valentino SA, Dubois C, Dahirel M, Aubriere MC. Placental structure and function in different breeds in horses. *Theriogenology* 2017;108:136e45.
- [19] Govaere J, Hoogewijs C, De Schawer, Roels K, Vanhaesebrouck E, De Lange V, et al. Placenta evaluation in Warmblood horses. *J Equine Vet Sci* 2014;34:237

- [20] Mariella J, Iacono E, Lanci A, Merlo B, Palermo C, Morris L, et al. Características macroscópicas do cordão umbilical em cavalos Standardbred, Thoroughbred e Warmblood. *Theriogenology* 2018;113:166e70.
- [21] Wilsher S, Bowker A, Silva J, Allen T. Morphological characteristics of the placenta and umbilical cord of Arabian mares foaling in the United Arab Emirates. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2020.
- [22] Lanci A, Perino F, Armani S, Merlo B, Iacomo E, Castagnetti C, Mariella J. Could assisted reproductive techniques affect equine fetal membranes and neonatal outcome? *Theriogenology*. 2024, p. 125-131.
- [23] Whitwell KE, Jeffcott LB. Morphological studies on the fetal membranes of the normal singleton foal at term. *Res Vet Sci* 1975;19:44e55
- [24] Rossdale PD. Equine Abortion. In: *Vet. Annual*. 1979; 16, 133-141.
- [25] Rossdale, P D, Ricketts, S W. Evaluation of the fetal membranes at foaling. *Equine Vet Educ*, 2002; 5, 78e82.
- [26] Hong CB, Donahue, JM, Giles, RC, Petrites-Murphu MB, Poonacha KB, Roberts AW, Smith BJ, Tramontin RR, Tuttle PA, Swerczek, TW. Etiology and pathology of equine placentitis. *J. Vet. Diagn. Invest*, 1993.
- [27] Meirelles MG, Veras MM, Alonso MA, Guimarães FG, Nichi M., Fernandes CB. Influence of Maternal Age and Parity on Placental Structure and Foal Characteristics From Birth up to 2 Years of Age. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2017; vol 56, p.68-79.
- [28] Wilsher S, Allen WR, Turnbull, C, Roels, K, Vanhaesebrouck, E. Influência do tamanho materno no crescimento placentário, fetal e pós-fetal no cavalo. I.Des. in útero. *Reprodução* 2002; 123:445e53.
- [29] Whitehead AE, Chenier TS, Foster RA. Placental characteristics of Standardbred mares. *Proc Am Ass Equine Practnrs* 2005;51:215e20.
- [30] Whitwell KE. Evaluation of fetal membranes at foaling. In: Rossdale PD, Ricketts SW, editors. *Equine veterinary education manual*. 5th Ed. UK: Equine Veterinary Journal, Ltd. Newmarket; 2002. p. 78e82.
- [31] Griffin PG, Ginther OJ. Uterine morphology and function in postpartum mares. *J Equine Vet Sci* 1991;11:330e9.

[32] Pazinato FM, Curcio BR, Fernandes CG, Feijó LS.; Schimith RA.; Nogueira CEW. Histological features of the placenta and their relation to the gross and data from Thoroughbred mares. *Pesq. Vet. Bras.* v. 36(7), p.665-670, 2016.

[33] Elliott C, Morton J, Chopin J. Factors affecting foal birth weight in Thoroughbred horses. *Theriogenology*. 2009; 71, 683- 689.

Tabela 1: Análise da raça Crioula, em relação as variáveis analisadas no estudo, expressos em média \pm EPM:

Variável ou Índice	Crioulas (n=39)	P
Peso alantocórion (kg)	4,35 \pm 0,10	0,088
Peso potro (kg)	44,17 \pm 0,96	0,086
Área total da Alantocórion (cm ²)	4550,4 \pm 2,51	0,150
Peso égua-peso potro	10,53 \pm 0,27	0,900
Peso alantocórion- peso potro	10,53 \pm 0,27	0,091
Volume total (cm ³)	0,28 \pm 0,0013	0,450
Volume total-peso potro	7,36x10 ³ \pm 3,45x10 ³	0,360
Área total- peso potro	107,15 \pm 6,50	0,070
Tempo de gestação (dias)	341,42 \pm 1,83	0,540

Tabela 2: Análise estereotípica do alantocórion de éguas da raça Crioula.

Variáveis de volume da placenta	Média ± EPM
VCG (cm ³)	0,0912 ± 5,27x10 ⁻³
VCNG (cm ³)	0,0988 ± 9,08x10 ⁻³
VC (cm ³)	0,099 ± 4,76x10 ⁻³
Vtotal (cm ³)	0,28 ± 1,3x10 ⁻³
Vtotal-peso potro	7,36 x 10 ³ ± 3,45x10 ³

VCG: Volume corno Gravídico; VCNG: Volume corno não gravídico; VC: Volume corpo uterino

Tabela 3: Correlações das variáveis histomorfométricas por porções do alantocóion e variáveis maternas, fetais e placentárias.

Variáveis correlacionadas		R	P
CORNO GRAVÍDICO (CG)			
Área Microcotiledonária CG	Tempo de Eliminação	0,69	0,02
Área Capilar Microcotiledonária CG	Peso do potro	0,59	0,04
Diâmetro vascular CG	-		
Lúmen vascular CG	Diâmetro vascular CG	0,78	0,004
	Diâmetro vascular CG	0,93	>0,01
Espessura vascular CG			
CORNO NÃO GRAVÍDICO (CNG)			
	Tempo de Gestação	0,61	0,04
Área Microcotiledonária CNG	-		
Área Capilar Microcotiledonária CG	Espessura vascular CNG	0,68	0,02
Diâmetro vascular CNG	-		
Lúmen vascular CNG	-		
Espessura vascular CNG	-		
CORPO UTERINO (C)			
	-		
Área Microcotiledonária C	Área da alantocóion	-0,68	0,02
Área Capilar Microcotiledonária C	Diâmetro vascular C	0,62	0,04
Diâmetro vascular C	Diâmetro vascular C	0,80	0,003
Lúmen vascular C			
Espessura vascular C			
Espessura vascular C	Tempo de Gestação	-0,66	0,02

Correlações analisadas Teste de Pearson ($p < 0,05$). CG: Corno Gravídico; CNG: Corno não gravídico; C Corpo uterino.

Tabela 4: Dimensões lineares do alantocórion da égua Crioula, comparando com a Pura Sangue Inglês.

Medidas Lineares (cm)		Crioulo (n = 39) Média ± SEM	PSI (n = 16) Média ± SEM	P	As dimensões das medidas lineares do Crioulo e PSI em %.	
ATP	Altura total da alantocórion	113,38 ± 1,56 ^b	123,19 ± 1,9 ^a	0,008	-	92,03
CTP	Comprimento total da alantocórion	88,38 ± 1,69 ^b	103,19 ± 6,81 ^a	0,005	-	85,6
AAP	Altura anterior da alantocórion	54,87 ± 1,32 ^b	65,18 ± 2,02 ^a	0,0001	-	84,2
CCNG	Comprimento total da alantocórion	55,38 ± 1,62	54,44 ± 2,01	0,7603	98,3	-
DMCG	Diâmetro médio CG	19,08 ± 0,5	17,5 ± 1,03	0,1427	91,7	-
DECG	Diâmetro de entrada CG	22,46 ± 0,63	23,18 ± 1,19	0,5642	96,8	-
CCG	Comprimento CG	57,72 ± 1,23 ^b	68,18 ± 1,45 ^a	0,0002	-	74,6
DECNG	Diâmetro de entrada CNG	19,83 ± 0,53 ^b	25,06 ± 1,65 ^a	0,0003		79,1
DMCNG	Diâmetro de médio CNG	17,60 ± 0,55 ^a	15,18 ± 0,93 ^b	0,0003	86,2	-
LFC	Largura frontal do corpo	33,74 ± 0,65 ^b	41,09 ± 0,79 ^a	0,0000	-	82,1
LMC	Largura média do corpo	31,96 ± 0,54 ^b	36,18 ± 0,55 ^a	0,0000	-	88,3
LPC	Largura posterior do corpo	32,74 ± 0,74	32,06 ± 0,97	0,6058	97,5	-
CCU	Comprimento total do CU	54,09 ± 1,31	55,18 ± 0,55	0,6920	-	98,02
CP	Curvatura da alantocórion	32,31 ± 0,99 ^b	52,26 ± 1,97 ^a	0,019	-	58,4

Letras diferentes nas linhas denotam diferença na análise variância one-way e post hoc Tukey (p < 0,05).

Tabela 5. Comparação entre as medidas lineares das porções de corno grávidico e não grávidico de acordo com as raças Crioula e Puro Sangue Inglês (PSI), expressos em Média±EPM (cm).

Raça	Corno grávidico			Valor P	Corno não-grávidico			Valor P
	Diâmetro médio	Diâmetro entrada	Comprimento		Diâmetro médio	Diâmetro entrada	Comprimento	
Crioula	20,5±0,5 ^a	22,8±0,6 ^a	58±1,2 ^a	0,09	55,4±1,6 ^a	20±0,53 ^b	17,8±0,5 ^b	<0,001
Puro-sangue inglês	17,5±1,0 ^b	23,2±1,2 ^b	68,2 ±1,5 ^a	<0,001	54,4±2,7 ^a	25,1±1,7 ^b	15,2±0,9 ^a	<0,001

Letras diferentes nas linhas denotam diferença na análise variância Kruskal-wallis one-way e post hoc teste Dunn's ($p < 0,05$).

Tabela 6. Correlações das medidas lineares da alantocórion na raça Crioula e das variáveis idade materna, peso da alantocórion, volume total da alantocórion, área total da alantocórion, tempo de gestação e tempo de eliminação da alantocórion e as biometrias maternas da égua e neonatais.

Variáveis analisadas		R	P
Altura total do alantocórion (ATP)	Altura anterior do alantocórion (AAP)	0,59	0,002
Altura total do alantocórion (ATP)	Largura posterior do corpo (LPC)	0,46	0,002
Altura total do alantocórion (ATP)	Circunferência torácica do potro	0,53	0,006
Comprimento total do alantocórion (CTP)	Diâmetro de entrada corno grávidico (DECG)	0,53	0,006
Altura anterior do alantocórion (AAP)	Idade materna	0,45	0,02
Altura anterior do alantocórion (AAP)	Peso potro	0,45	0,02
Comprimento corno não grávidico (CCNG)	Comprimento corno grávidico (CCG)	0,48	0,01
Comprimento corno não grávidico (CCNG)	Circunferência torácica do potro	0,43	0,03
Comprimento corno não grávidico (CCNG)	Altura do potro	0,47	0,01
Diâmetro médio corno grávidico (DMCG)	Diâmetro médio corno não grávidico (DMCNG)	0,52	0,008
Diâmetro de entrada corno grávidico (DMCG)	Área total do alantocórion	0,47	0,02
Diâmetro de entrada corno grávidico (DMCG)	Altura da égua	0,38	0,03
Comprimento corno grávidico (CCG)	Largura frontal do corpo (LFC)	-0,58	0,002
Diâmetro de entrada corno não grávidico (DECNG)	Diâmetro médio corno não grávidico (DMCNG)	0,59	0,01
Largura posterior do corpo (LPC)	Peso do alantocórion	0,4	0,04
Largura posterior do corpo (LPC)	Tempo de gestação	-0,42	0,04
Comprimento total do cordão umbilical (CCU)	Circunferência torácica do potro	0,46	0,02
Correlações analisadas Teste de Pearson ($p < 0,05$).			

3.2 Artigo 2

Avaliação histomorfométrica do corioalantóide na espécie equina com o uso da análise digital de imagens

Gabriela C. Silva, Carlos E.W. Nogueira, Antônio S. Varela, Carine D. Corcini,
Rafaela A. Oliveira, Bruna R. Curcio

Aceito para publicação na revista Scire Salutis

Avaliação histomorfométrica do corioalantóide na espécie equina com o uso da análise digital de imagens

Histomorphometric evaluation of the chorioallantois in horses using digital image analysis

RESUMO

A saúde e o crescimento fetal são diretamente influenciados pelo desenvolvimento e função placentária. A análise digital de imagem baseada em amostras de tecido mostra-se promissoras tanto para reduzir a subjetividade das avaliações tradicionais quanto para reduzir o tempo necessário para analisar cada amostra. O objetivo do presente estudo é descrever as etapas de avaliação da placenta a termos na égua, com ênfase na avaliação da histomorfometria microcotiledonária com o uso da análise digital de imagens. Doze placentas de éguas Crioulas foram coletadas imediatamente após a eliminação no pós-parto imediato. Após avaliação macroscópica, foram obtidas amostras das regiões correspondentes ao corno gravídico, corno não gravídico e corpo uterino. Imagens digitalizadas foram obtidas dos segmentos com o auxílio de uma câmera de alta resolução acoplada ao microscópio e posteriormente processadas usando o software NIH ImageJ. Foram acompanhadas 12 éguas da raça crioula, com idade média de $8,4 \pm 4$ anos, com parto eutócico e nascimento de um único potro saudável. As placentas foram eliminadas em $25,3 \pm 10$ minutos e pesaram $4,5 \pm 0,7$ Kg. Na avaliação histológica foram observados achados característicos de placentas saudáveis a termo na espécie equina. Na avaliação digital, as imagens foram avaliadas em cores RGB com o total de pixels calibrados para μm . As quantificações da área microcotiledonar e capilar foram realizadas com a macro Color Threshold, e faixa de cores ajustada pela escala RGB. No total foram avaliadas 360 fotos, provenientes das 3 áreas placentárias das 12 éguas (30 fotos por égua). As medidas histomorfométricas obtidas demonstraram um padrão de distribuição normal e a homogeneidade dos dados pode ser comprovada pelos baixos valores nas medidas de dispersão entre as éguas avaliadas. Pode-se concluir que o uso da análise digital de imagens para avaliação da histomorfometria microcotiledonária de placentas equinas a termo mostrou-se uma ferramenta adequada para obtenção de informações objetivas dessa estrutura.

Palavras-Chave: placenta; microcotilédones; área capilar; égua

ABSTRACT

Fetal health and growth are directly influenced by placental development and function. Digital image analysis based on tissue samples shows promise both for reducing the subjectivity of traditional evaluations and for reducing the time needed to analyze each sample. The aim of this study is to

describe the steps involved in assessing the placenta at term in mares, with an emphasis on evaluating micro-cotyledon histomorphometry using digital image analysis. Twelve placentas from Criollo mares were collected immediately after elimination in the immediate postpartum period. After macroscopic evaluation, samples were taken from the regions corresponding to the gravid horn, non-gravid horn and uterine body. Digitized images were taken of the segments using a high-resolution camera attached to the microscope and then processed using NIH ImageJ software. Twelve Criollo mares were followed up, with an average age of 8.4 ± 4 years, with eutocic foaling of a single healthy foal. The placentas were eliminated in 25.3 ± 10 minutes and weighed 4.5 ± 0.7 kg. Histological evaluation revealed findings characteristic of healthy placentas at term in horses. In the digital evaluation, the images were evaluated in RGB color with the total number of pixels calibrated to μm . Quantification of the microcotyledon and capillary area was carried out using the Color Threshold macro, with the color range adjusted using the RGB scale. A total of 360 photos from the 3 placental areas of the 12 mares were evaluated (30 photos per mare). The histomorphometric measurements obtained showed a normal distribution pattern and the homogeneity of the data can be seen in the low dispersion values between the mares evaluated. It can be concluded that the use of digital image analysis to evaluate the microcotyledon histomorphometry of equine placentas at term proved to be an adequate tool for obtaining objective information on this structure.

Keywords: placenta; microcotyledons; capillary area; mare

INTRODUÇÃO

A saúde e o crescimento fetal são diretamente afetados pelo desenvolvimento e função placentária. Ao longo de toda a gestação, a placenta desempenha um papel crucial, facilitando a troca de gases essenciais, nutrientes e produtos residuais entre os sistemas vasculares fetal e materno (MACDONALD, 2000). Na placenta equina, caracterizada como epiteliocoriônica difusa e adecídua, o trofoblasto assume uma organização em vilosidades coriônicas ramificadas que se entrelaçam com o epitélio endometrial, formando os microcotilédones (ABD-ELNAEIMI et al., 2006).

Essa arquitetura intrincada é vital para o adequado fornecimento de substâncias essenciais ao desenvolvimento fetal. Anormalidades estruturais ou funcionais que comprometem a função placentária podem se refletir em deficiências no crescimento fetal e em sua maturação (BUCCA, 2006). Compreender os aspectos do desenvolvimento e função placentária na espécie equina é, portanto, crucial para avaliação e o entendimento da saúde e o bem-estar do feto ao longo da gestação.

A placenta equina caracteriza-se como um órgão transitório, formado por tecidos de origem materna e fetal, histologicamente formada por uma porção alantoideana e outra coriônica, ambas

oriundas do mesoderma e a invasão vascular acompanha o mesoderma alantoideano (ALLEN, 2002). Sua face coriônica, cuja coloração varia de vermelha a acastanhada, apresentando uma superfície com aspecto aveludado devido à presença dos microcotilédones. A face alantoideana, por sua vez, exibe uma coloração que varia de roxa a azulada e é caracterizada pela presença de vasos sanguíneos proeminentes (ALLEN, 200). A superfície coriônica reflete o estado do endométrio da égua, sendo que em áreas onde não há contato da placenta com o endométrio, seja devido a fibrose endometrial ou compressão direta do feto sobre uma região vascular, podem resultar em áreas de avilositades (LAUGIER et al., 2011).

Imediatamente após o parto, é rotina na obstetrícia equina, a realização de avaliação macroscópica sistemática das faces coriônica e alantoideana. Com identificação das características das porções específicas referentes ao corno gravídico, corno não gravídico e corpo uterino da placenta. Iniciando com um exame rudimentar para verificação da integridade da placenta e na sequência avaliações nas características de coloração, espessura e presença de secreções em ambas as superfícies é recomendado. Esse exame minucioso da placenta pode detectar anormalidades indicativas de problemas que podem influenciar a saúde neonatal, enquanto outras podem fornecer informações sobre a saúde uterina. O exame da placenta também revelará anomalias na estrutura que podem ter influenciado sua função intraútero ou meramente refletir uma variação biológica normal (WILSHER et al., 2020).

Além da avaliação macroscópica, a histologia placentária é fundamental na avaliação da saúde placentária, assim como informações sobre a própria gestação. Contudo, a histologia básica permite avaliar as estruturas somente em duas dimensões, sendo incapaz de quantificar características microscópicas. Métodos estereológicos de histomorfometria, permitem a avaliação estrutural tridimensional tornando-se uma ferramenta extremamente útil para a descrição morfométrica quantitativa sendo por técnicas de microscopia, microscopia eletrônica ou técnicas de estereologia usadas para avaliação morfométrica de tecidos (FERREIRA, 2011).

A análise histomorfométrica, amplamente estabelecida na avaliação da relação feto-materna em humanos, possui poucas descrições na espécie equina (BIANCO et al., 2014; VERONESI et al., 2010). Essa técnica, fundamentada na utilização fotografias provenientes de lâminas histológicas, revela-se promissora, oferecendo uma análise de imagem digital baseada em computador para amostras de tecido. Isso não apenas contribui para diminuir a subjetividade inerente às avaliações tradicionais de tecidos, mas também reduz significativamente o tempo necessário para analisar cada amostra. Essa convergência entre a análise histomorfométrica e a tecnologia digital destaca-se como uma estratégia valiosa não apenas na pesquisa na área de obstetrícia equina, como também na aplicação clínica, onde a objetividade da análise é crucial na compreensão e diagnóstico de condições placentárias assim como na viabilidade da própria gestação. Desta forma o objetivo do presente é

descrever as etapas da avaliação da placenta a termos na égua, com ênfase na avaliação da histomorfometria microcotiledonária com o uso da análise digital de imagens.

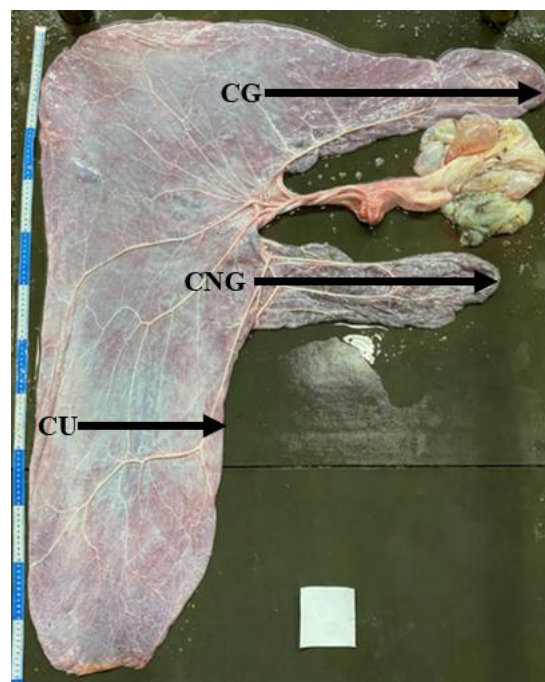
METODOLOGIA

O estudo foi realizado a partir de 12 placentas sadias de éguas Crioulas com idade média de $8,4 \pm 4$ anos, oriundas do plantel do Centro de Ensino e Experimentação em Equinocultura da Palma (CEEP), da Universidade Federal de Pelotas, localizado na BR 116-KM, 537, Capão do Leão-RS. Sob o comitê de ética CEEA número 23110.03594/2020-28.

Foi realizado acompanhamento gestacional das éguas para a assistência aos partos e coleta imediata das placentas a termo. Imediatamente após a expulsão das membranas fetais, era mensurado em minutos seu tempo de eliminação, e essas eram pesadas em balança digital.

Para a avaliação macroscópica, as placentas foram dispostas em formato "F", seguindo a descrição de Schlafer (2004), possibilitando a exposição uniforme de toda a superfície, de ambos os lados. Durante a avaliação, as superfícies coriônicas e alantoideanas (Figura 1) foram minuciosamente examinadas em busca de anormalidades, incluindo alterações na coloração, presença de áreas desprovidas de vilosidades, áreas com espessamento anormal e presença de exsudato.

Figura 1: Placenta equina, disposta em formato “F” em sua face alantoideana,



demonstrando sequencialmente as porções placentárias correspondentes as porções de corno gravídico (CG), corno não gravídico (CNG) e corpo uterino (CUt).

Após a avaliação macroscópica, foram coletados fragmentos de 3 × 3 cm de dimensão de quatro pontos de cada placenta, correspondentes às regiões de corno gravídico, corno não gravídico e corpo uterino. Todas as amostras passaram pelo processo de fixação em formalina 10% por 24h e então transferidos para álcool 70%. Seguindo o processamento foram desidratados usando sequência de álcool, incluídos em parafina, seccionados em corte de 5 µm, montados em lâminas de vidro e corados com hematoxilina e eosina.

As lâminas foram submetidas à avaliação inicial utilizando microscopia óptica para avaliação histopatológica. Para a avaliação histomorfométrica dos microcotilédones, foram obtidas as imagens digitalizadas de todas as porções amostradas a partir dos segmentos do corpo uterino, corno gravídico e não gravídico, utilizando uma câmera de alta resolução Olympus DP72 acoplada ao microscópio Olympus BX51 (Olympus América, Center Valley, PA).

Foi realizada análise de estatística descritiva e teste de normalidade Shapiro-wilks para determinar a característica de distribuição dos dados, com o auxílio do software Statistix 10.0® (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA). Os resultados estão descritos como média ± DPM e coeficiente de variação (%).

RESULTADOS

Foram acompanhadas 12 éguas da raça crioula, com idade média de $8,4 \pm 4$ anos. Todas apresentaram parto eutócico com o nascimento de um único potro saudável. Tiveram tempo para eliminação completa da placenta de $25,3 \pm 10$ minutos, as quais apresentaram peso de $4,5 \pm 0,7$ Kg.

Na avaliação histológica foi observada uma superfície coriônica revestida por células cuboides e colunares nas regiões areolares. Também eram observados porções de aglomerados de vilos com distribuição aleatória, formando os microcotilédones, os apresentavam-se por vezes ramificados. Sendo esses achados característicos de placentas saudáveis a termo na espécie equina (Figura 2).

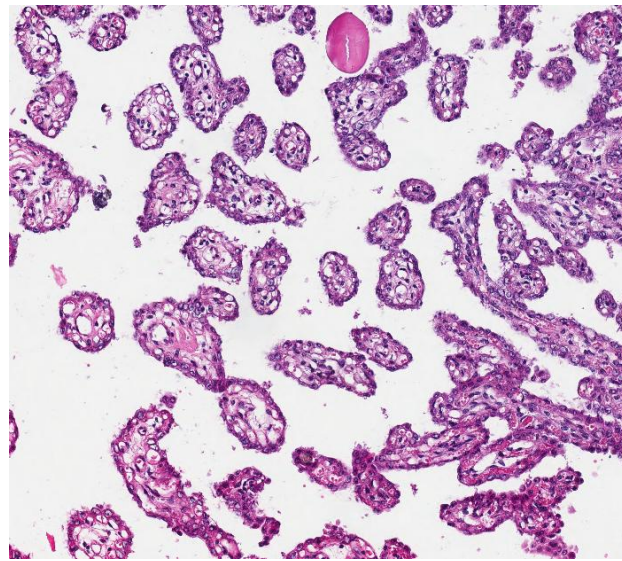


Figura 2: Imagem digitalizada obtida a partir do segmento da porção do corno gravídico, demonstrando a característica de ramificações dos microcotilédones com aumento de 300 μ m.

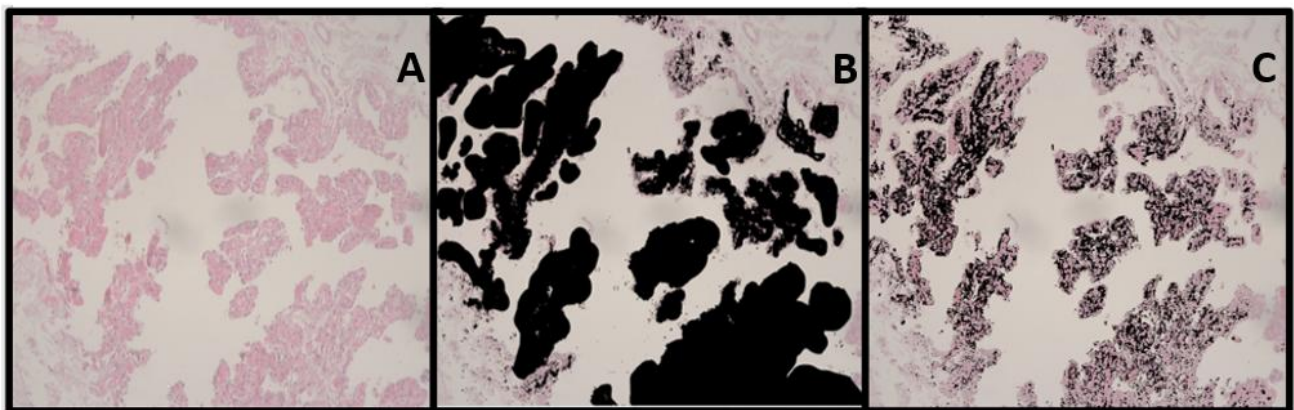


Figura 3: Sequência de processamento digital das imagens para análise histomorfométrica da região correspondente ao corno gravídico de corionalantóide equino, com o auxílio do programa NIH ImageJ 1.48r (Instituto Nacional de Saúde dos EUA, disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). (A) Imagem inicial da lâmina histológica demonstrando o parênquima e microcotilédones corado por hematoxilina-eosina. (B) área total microcotiledonária, ajustado na escala RGB (black) para a determinação da intensidade de cor, através do método de absorção (C) área total capilar dos microcotilédones, ajustado na escala

RGB (black) para determinação da intensidade de cor a partir dos eritrócitos no epitélio coriônico, através do método de absorção.

Para a análise histomorfométrica, as imagens foram captadas utilizando uma câmera de alta resolução Olympus DP72 acoplada ao microscópio Olympus BX51 (Olympus América, Center Valley, PA). Posteriormente, as imagens digitais foram processadas através do software de código aberto NIH ImageJ 1.48r (Instituto Nacional de Saúde dos EUA, disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). A histomorfometria concentrou-se na área microcotiledonar e área capilar dos microcotilédones, ambas avaliadas no epitélio coriônico da corioalantóide. As imagens foram analisadas em cores RGB, com a totalidade dos pixels calibrados para μm . A quantificação da área/campo microcotiledonário e capilar foi realizada utilizando a macro "Color Threshold", ajustando a faixa de cores conforme a escala RGB. Diferenças na intensidade da cor foram analisadas através do método de absorção diferencial (Figura 3).

Em situações em que não havia eritrócitos nos capilares, a correção das medidas da área/campo capilar foi realizada por meio do plug-in "Freehand". A área do campo (ampliação de 100x) para aquisição de imagens digitalizadas foi fixada em $146,673 \mu\text{m}^2$. A mensuração do menor diâmetro da rede microcotiledonar foi realizada através da amostragem de 5 por 10 em cada porção avaliada do tecido placentário. Essa abordagem metódica proporciona uma análise detalhada dos parâmetros histomorfométricos, permitindo a compreensão aprofundada do desenvolvimento das vilosidades na placenta equina.

No total foram analisadas 36 lâminas, sendo que de cada lâmina eram avaliados 10 diferentes campos, perfazendo um total de 360 observações para avaliação de área microcotiledonária total e área capilar de microcotilédones. Esse método sistemático e repetido visa garantir uma análise robusta e confiável das características histológicas em todas as áreas de interesse.

As medidas histomorfométricas obtidas demonstraram um padrão de distribuição normal nas três porções avaliadas. A homogeneidade dos dados pode ser comprovada pelos baixos valores nas medidas de dispersão (desvio padrão e coeficientes de variação) entre as éguas avaliadas (Tabela 1).

Tabela 1. Área total de microcotilédones e área capilar microcotiledonária (μm^2) das placentas saudáveis da raça Crioula, expressas em Média \pm DPM e coeficiente de variação (%).

Porções da placenta	Área total	CV (%)	Área capilar	CV (%)
	Microcotilédones (μm^2)		Microcotiledonária (μm^2)	
Corno grávidico	$4,95 \times 10^6 \pm 0,42$	8,6	$1,65 \times 10^6 \pm 0,18$	10,9
Corno não grávidico	$3,08 \times 10^6 \pm 0,14$	4,4	$1,15 \times 10^6 \pm 0,06$	5,6
Corpo uterino	$3,1 \times 10^6 \pm 0,25$	8,2	$1,23 \times 10^6 \pm 0,08$	6,4

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que a análise digital de imagens mostrou--se uma abordagem confiável e eficiente na segmentação, cálculo e extração do delineamento das vilosidades, produzindo imagens de teste representativas. A eficácia desse método resulta da sinergia entre a visão computacional e a visão humana. enquanto a visão humana é intrinsecamente orientada a objetos, em contraste com a representação predominantemente baseada em pixels da visão computacional. A imagem da placenta naturalmente proporciona uma distinção entre os objetos de interesse (vilosidades, em primeiro plano) e o fundo (espaço intervilo), tornando o limiar altamente eficiente na separação desses dois componentes. Essa combinação de capacidades humanas e algorítmicas contribui para a robustez e precisão do método, destacando seu potencial na análise histomorfométrica detalhada da placenta (BIANCO et al., 2014). Através da técnica observamos neste trabalho coerência entre as médias de área total microcotiledonares e área total capilar com as descritas em literatura para raça Puro Sangue Inglês por Pazzinato e colaboradores (2016).

Autores como Cross (1994) e Arora (2011) destacam a eficiência da análise digital na avaliação da placenta humana, enfatizando a importância da área da interface feto-materna funcional como fator crucial no estabelecimento da troca placentária adequada. Essa observação reforça a relevância do presente estudo na avaliação dos parâmetros histomorfométricos quantitativos do desenvolvimento de vilosidades na placenta equina.

Diferenças histológicas são notadas em conformidade com cada região placentária, como a maior densidade microcotiledonária, com vilos mais longos e ramificados no corno não grávidico em comparação com o corno grávidico e o corpo uterino da placenta (SAMUEL et al., 1974; MACDONALDS et al., 2000). Essas distinções ressaltam a complexidade e a importância da caracterização histomorfométrica em diferentes regiões da placenta equina.

Um estudo conduzido sobre a avaliação morfológica da placenta equina revelou que a área microscópica de contato materno-fetal é influenciada pelos genótipos maternos e fetais (ALLEN et al., 2002). Enquanto o genótipo materno controla a densidade microcotiledonária, o genótipo fetal pode desempenhar um papel crucial na determinação da área placentária total. Descobertas adicionais conduzidas por Wilsher e Allen (2012) apontam para uma correlação positiva entre a densidade microcotiledonária e o peso do potro, bem como uma relação entre a idade da égua e a densidade microcotiledonária.

Além das avaliações macroscópicas e histológicas da placenta, os métodos morfométricos emergem como ferramentas precisas para obter informações quantitativas tridimensionais sobre estruturas microscópicas. Nesse contexto, softwares como o ImageJ destacam-se por sua fácil aplicabilidade e segurança, sendo amplamente utilizado na área de patologia para auxiliar na mensuração de resultados em diversas técnicas (HELMY & ABDLAZIM 2012; OZERDEM et al., 2013).

CONCLUSÃO

O uso da análise digital de imagens para avaliação da histomorfometria microcotiledonária de placentas equinas a temo mostrou-se uma ferramenta adequada para obtenção de informações objetivas dessa estrutura. Proporcionando uma compreensão mais detalhada da arquitetura microscópica da placenta nas diferentes porções.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELNAEIMI, M. M. M.; LEISER, R.; WILSHER, S.; ALLEN, W. R.. Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. **Placenta**, New York, v.27, p.1103-1113, 2006. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2005.11.005>
- ALLEN, W.R.; WILSHER, S.; TURNBULL, C.; STEWART, F.; OUSEY, J., ROSSDALE, P.D.. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse: I. Development in utero. **Reproduction**, New York, v.123, n.3, p.445-453, 2002. DOI: <http://doi.org/10.1677/joe.0.1720237>
- ARORA, S. K.; DEY, P.. Fractal and lacunar dimension of the chorionic villi of molar pregnancy. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, Washington, v.33, n.2 p. 82-84, 2011.
- BIANCO, C.; PIRRONE, A.; BOLDINI, S; SARLI, G.; CASTAGNETI, C.. Histomorphometric parameters and fractal complexity of the equine placenta from healthy and sick foals. **Theriogenology**, New York, v.82, n.8, p.1106-1112, 2014. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.07.036>
- BUCCA, S.. Diagnosis of the compromised equine pregnancy. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, New York, v.2, p.749-761, 2006. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cveq.2006.07.006>

CROSS, S. S.; HOWAT, A. J.; STEPHENSON, T. J.; COTTON, D. W.; UNDERWOOD, J. C.. Fractag geometric analysis of material from molar and non-molar pregnancies. **The Journal of Pathology**, v.173, n.2, p.115-118, 1994. DOI: <http://doi.org/10.1002/path.1711730207>

FERREIRA, A. A.; KRAUSE, C. I.; COSTA, M. H.; RIVERO, E. R. C.; TARQUÍNIO, S. B. C.. An image processing software applied to oral pathology. **Pathology – Research and Practice**, New York, v. 207, p. 232-235, 2011. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.prp.2011.02.002>

HELMY, I. M.; ABDEL-AZIM, A. M.. Efficacy of ImageJ in the assessment of apoptosis. **Diagnostic Pathology**, London, v.7, n.15, p.1-6, 2012. DOI: <http://doi.org/10.1186/1746-1596-7-15>

LAUGIER, C.; FOUCHER, N.; SEVIN, C.; LEON, A.; TAPPRES, J.. A 24 year retrospective study of equine abortion in Normandy (France). **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v.31, p.116-23, 2011. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jevs.2010.12.012>

MACDONALD, A. A.; CHAVATTE, P.; FOWDEN, A. L.. Scanning electron microscopy of the microcotyledonary placenta of the horse (*Equus caballus*) in the latter half of gestation. **Placenta**, New York, v.21, n.5-6, p.565–574, 2020. DOI: <http://doi.org/10.1053/plac.2000.0510>

OZERDEM, U.; WOJCIK, E. M.; BARKAN, G. A.; DUAN, X.; ERSAHIN, Ç.. A practical application of quantitative vascular image analysis in breast pathology. **Pathology – Research and Practice**, New York, v. 209, p. 455-458, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.prp.2013.03.004>

PAZINATO FM.; CURCIO BR.; FERNANDES CG.; FEIJÓ LS.; SCHMITH RA.; NOGUEIRA CEW. Histological features of the placenta and their relation to the gross and data from Thoroughbred mares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Paulo, v.36, n7, p.665-670, 2016. DOI: 10.1590/S0100-736X2016000700018

SAMUEL, C. A.; ALLEN, W. R.; STENEN, H. D.. Studies on the equine placenta. I. Development of the microcotyledons. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.41, n.2, p.441-445, 1974. DOI: <http://doi.org/10.1530/jrf.0.0410441>

SCHALAFER, D. H.. Postmortem examination of the equine placenta, fetus, and neonate: Methods and interpretation of findings. In: American Association on Equine Practitioners Convention, **50nd. Proceedings**, Denver, v.50, p.144-161, 2004.

VERONESI, M.C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A.; CARLUCCIO, A.. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, New York, v.74, n.4, p.627-631, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.03.006>

WILSHER, S.; ALLEN, W. R.. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v.35, n.5, p.476-483, 2012. DOI: <http://doi.org/10.2746/042516403775600550>

WILSHER, S.; BOWKER, A.; SILVA, J.; ALLEN, T.. Morphological characteristics of the placenta and umbilical cord of Arabian mares foaling in the United Arab Emirates. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v.91, p.103124, 2020. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103124>

3.3 Artigo 3

Cordão umbilical equino: características na gestação e avaliação no pós-parto

SILVA, G.C; NOGUEIRA, C.E.W; PAZINATO, F.M; DEL PINO, T.S; SILVA, R.B;
CURCIO, B.R.

Publicado na revista Research, Society and Development

Cordão umbilical equino: características na gestação e avaliação no pós-parto

Equine umbilical cord: features during gestation and postpartum evaluation **Cordón umbilical equino: características durante la gestación y la evaluación posparto**

SILVA, G.C; NOGUEIRA, C.E.W; PAZINATO, F.M; DEL PINO, T.S; SILVA, R.B; CURCIO, B.R.

Recebido: 08/01/2021 | Revisado: 10/01/2021 | Aceito: 11/01/2021 | Publicado: 13/01/2021

Resumo

No equino, assim como nos mamíferos em geral, o cordão umbilical é a única fonte de condução de nutrientes, gases e metabólitos da placenta para o feto, e o seu adequado desenvolvimento é de extrema importância para a saúde fetal durante a gestação. O objetivo da presente revisão é caracterizar o cordão umbilical durante a gestação em equinos, bem como descrever as principais alterações e achados casuais na avaliação deste junto à placenta e o neonato no pós-parto. Como metodologia foi realizada uma revisão de literatura qualitativa sobre as características do cordão umbilical na espécie equina utilizando artigos disponíveis nas plataformas Mendeley, MEDLINE, PubMed e SciELO. Como resultados podemos identificar as características de anatomia e desenvolvimento. Assim como as alterações mais comuns: presença de cordões excessivamente longos (apresentando mais de 85 cm de comprimento ao nascimento), torção do cordão e alterações do úraco. Estas podem ser de origem não infecciosa (hérnias umbilicais e o úraco persistente) ou infecciosa (onfalopatias). Como achados casuais podemos citar as placas amnióticas e a ossificação dos remanescentes do cordão umbilical e saco vitelínico. Conclui-se que a avaliação do cordão umbilical no pós-parto imediato auxilia no reconhecimento de alterações não observadas durante a gestação, sendo imprescindível caracterizar as alterações de relevância clínica dos achados casuais na avaliação do cordão umbilical em equinos.

Palavras-chave: Obstetrícia; Éguas; Placenta; Saco vitelínico.

Abstract

In equines, as other mammalian species, the umbilical cord is the only source of conduction of nutrients, gases, and metabolites from the placenta to the fetus, and its adequate development is super important for fetal health during pregnancy. The aim of the present review is to characterize the umbilical cord during pregnancy in horses, as well as to describe the main changes and casual findings in its evaluation with the placenta and the newborn in the postpartum period. For methodology a qualitative literature review was performed about the characteristics of the umbilical cord in the equine specie using articles selected using Mendeley, MEDLINE, PubMed and SciELO platforms. As a result, we can identify the characteristics of anatomy and development. Moreover, the most common changes in the umbilical cord are the identification of excessive length cords (over 85 cm at term), pathological twisting, or torsion of the cord and changes of uracus. These can be of non-infectious (umbilical hernias and patent uracus) or infectious conditions (omphalopathies). As casual findings, we can find amniotic plaques and ossification of remnants of the umbilical cord and yolk sac. We conclude that the evaluation of the umbilical cord in the immediate postpartum period could help in the recognition of changes not observed during pregnancy, and it is essential to characterize the changes of clinical relevance of the casual

findings in evaluation of the umbilical cord in equines. **Keywords:** Obstetrics; Mares; Placenta; Yolk sac.

Resumen

En el caballo, así como en los mamíferos en general, el cordón umbilical es la única fuente de conducción de nutrientes, gases y metabolitos de la placenta al feto, y su adecuado desarrollo es de suma importancia para la salud fetal durante la gestación. El objetivo de la presente revisión es caracterizar el cordón umbilical durante la gestación en caballos, así como describir los principales cambios y hallazgos casuales en su evaluación con la placenta y el recién nacido en el posparto. Como metodología, se realizó una revisión bibliográfica cualitativa sobre las características del cordón umbilical en la especie equina utilizando artículos disponibles en las plataformas Mendeley, MEDLINE, PubMed y SciELO. Como resultado, podemos identificar las características de la anatomía y el desarrollo. Así como, los cambios más frecuentes en el cordón umbilical: la identificación de cordones excesivamente largos (más de 85 cm de longitud al nacer), torsión del cordón y cambios en el uraco. Estos pueden ser de origen no infeccioso (hernias umbilicales y uraco persistente) o infecciosos (onfalopatías). Como hallazgos casuales podemos mencionar las placas amnióticas y la osificación de los restos del cordón umbilical y del saco vitelino. Se concluye que la evaluación del cordón umbilical en el posparto inmediato ayuda en el reconocimiento de cambios no observados durante la gestación, y es fundamental caracterizar la relevancia clínica de los cambios de los hallazgos casuales en la evaluación del cordón umbilical en equinos.

Palabras clave: Obstetricia; Yeguas; Placenta; Saco vitelino.

Introdução

Nos mamíferos, o cordão umbilical é a rota de transporte de sangue oxigenado e nutrientes para o feto durante a gestação, além de ser responsável por todas as trocas gasosas e metabólicas, necessárias para o desenvolvimento fetal (Wilsher et al., 2011).

O pulmão fetal não é funcional no útero, dessa forma, são os vasos umbilicais os responsáveis por suprir o feto de sangue oxigenado. Nos equinos este passa pelo ducto venoso, o maior vaso da placenta, passando pelo fígado embrionário, e deste para veia cava caudal (Mcgeady et al., 2006).

Como única fonte de condução de nutrientes, gases e metabólitos da placenta ao feto, o adequado desenvolvimento e sanidade do cordão umbilical é de extrema importância para a saúde fetal durante a gestação (Wilsher et al., 2011). As alterações de torção ou enrolamento anormal do cordão umbilical são as mais frequentemente descritas em equinos e outros mamíferos, incluindo humanos mesmo com todo auxílio e cuidados pré-natais a fim de evitar os fatores de risco ao nascimento (Pieszak et al., 2020). Sendo humanos a torção de cordão umbilical pode estar associada com a trombose de vasos da face coriônica da placenta, trombose venosa umbilical, e estenose do cordão. Assim, quando a torção umbilical ocorre de forma parcial pode ser considerada com “um estado crônico”, o qual promove retardo no crescimento fetal, assim como em casos de a torção umbilical ser de maior grau, ou seja, “torção aguda”, ocorre a morte fetal e aborto (Machin et al., 2000).

O objetivo deste estudo é realizar uma revisão sobre características do cordão umbilical durante a gestação em equinos, bem como descrever as principais alterações e achados casuais na avaliação deste junto à placenta e o neonato no pós-parto.

Metodologia

O presente estudo consta de uma revisão de literatura qualitativa como ferramenta de metodologia de pesquisa científica (Pereira et al., 2018), realizando assim uma reflexão sobre a manifestação de ideias e sua representação sobre as características do cordão umbilical na espécie equina. Para realização da revisão foram selecionados artigos utilizando as plataformas Mendeley, MEDLINE, PubMed e SciELO. Devido ao escasso número de publicações específicas na espécie equina, foram utilizados artigos publicados a partir do ano de 1975.

Anatomia e Desenvolvimento

No equino, o cordão desenvolve-se até o 50º dia de gestação, a partir da convergência das duas membranas fetais: o âmnio e o alantoide (Wilsher et al., 2011). Com a expansão do alantoide e regressão do saco vitelínico durante o desenvolvimento embrionário, o cordão umbilical aumenta gradativamente seu comprimento. Como resultado, o úraco também se alonga (Whitwell, 1975).

Durante a regressão do saco vitelínico o mesmo se adere na porção média do cordão, local de projeção da membrana amniótica. A posição de regressão do saco vitelínico para o cordão constitui o sítio de ligação do alantocórion ao cordão durante toda a gestação, identificando o corno uterino e local onde a fixação do embrião ocorreu (Mariela et al., 2018).

O cordão umbilical equino é composto por três vasos umbilicais, sendo duas artérias, uma veia, e o úraco. As artérias umbilicais são oriundas das artérias ilíacas internas e a veia umbilical, que se forma da união de duas ou três veias tributárias oriundas da placenta (Carvalho et al., 2001).

A porção proximal amniótica do cordão é coberta pelo âmnio e está ligada ao feto através do umbigo, e a porção alantóica coberta pelo alantoide, está ligada ao alantocórion. A porção amniótica do cordão umbilical contém duas artérias, uma veia umbilical, e o úraco (Wilsher et al., 2011).

Na porção alantóica do cordão, ocorre maior divergência das duas artérias e múltiplas ramificações das mesmas em direção ao córion placentário. As veias e o ducto umbilical que retornam sangue para o feto tendem a estar muito próximas a estas artérias. As veias maiores unem-se na porção proximal ao final da região alantóica ou já dentro da cavidade amniótica (Wilsher et al., 2011).

Na porção distal intra-alantóide as duas artérias umbilicais principais tornam-se divergentes e multi ramificadas em direção ao córion e as duas veias umbilicais permanecem próximas a essas artérias. As duas veias principais se unem na extremidade proximal da porção alantóide ou apenas dentro da cavidade amniótica. O úraco conecta a bexiga urinária fetal à cavidade alantóide dentro do tecido estromal na porção amniótica (Schlafer, 2004).

Em estudo realizado em fetos equinos sem raça definida, foi observado que entre os vasos umbilicais formam-se vasos funiculares anastomóticos, sendo essas anastomoses arteriovenosas. Em nenhuma delas houve ramos funiculares oriundos destas anastomoses. Na observação do funículo umbilical composto pelo ducto alantóide, juntamente com os vasos, encontra-se entremeado pela gelatina de Wharton e rodeados pelo âmnio (Carvalho et al., 2001).

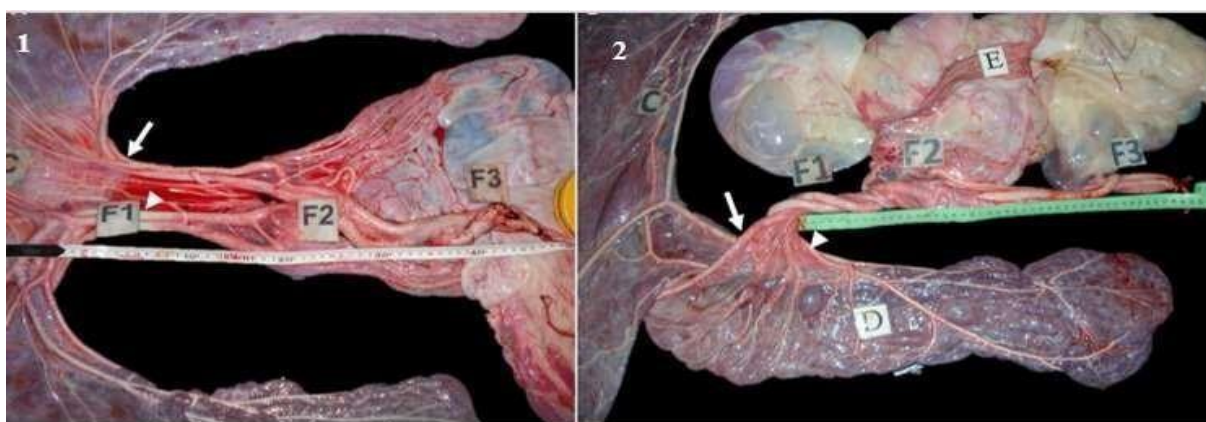
Visualmente o cordão umbilical normal apresenta espirais anatômicas, que não devem ser confundidas com quadros de torção. O comprimento do cordão em fetos equinos equivale geralmente ao seu comprimento corporal, variando de 28 a 70 cm em fetos com idades de 73 a 249 dias de gestação. Em criatórios de equinos PSI no sul do Brasil, a média de comprimento do cordão observada foi de 47,6 cm, com mínimo e máximo, de 30 e 84 cm respectivamente (Pazinato et al., 2016).

A convergência das artérias umbilicais, diretamente do alantocórion até a junção para projeção do cordão, determina o tipo de formação vascular placentária. Há três tipos principais de formação vascular resultante da convergência das artérias para o cordão na espécie equina (Whitwell, 1982).

O tipo I é o mais comumente encontrado, no qual uma artéria converge do corno gravídico, enquanto as outras estão distribuídas no corpo e corno não gravídico da placenta (Figura 1, arquivo pessoal) (Rossdale & Ricketts, 2002). O tipo II perfaz de 20 a 23% de incidência e apresenta uma

artéria saindo do corno gravídico e corpo uterino, enquanto as outras convergem do corno não gravídico (Figura 2, arquivo pessoal) (Rossdale & Ricketts, 2002). Já o tipo III é o mais raro, no qual uma artéria converge do corno gravídico e não gravídico, e da maior parte do corpo do útero, e outra se prolonga da curvatura dorsal do corpo uterino (Rossdale & Ricketts, 2002). O tipo III foi previamente descrito como resultante de quadros gemelares onde há redução manual de um dos gêmeos, porém o nível de incidência nestes quadros é variado. Outras variações de distribuição vascular na placenta foram observadas, porém sua importância sobre o desenvolvimento e sanidade fetal não são conhecidas (Whitwell, 1975).

Figura 1. Formação vascular placentária Tipo I, demonstrando projeção de uma artéria para corno gravídico (seta), e as outras convergindo para corpo e corno não gravídico (cabeça de seta).
Figura 2. Tipo II de vasculatura placentária, demonstrando uma artéria convergindo do corno gravídico e corpo uterino (seta), enquanto as outras convergem



Fonte: Arquivo pessoal.

Nas figuras acima observamos os diferentes tipos de formação vascular placentária Tipo I e Tipo II, os mais frequentemente encontrados na avaliação pós-parto. Na Figura podemos identificar a projeção de uma artéria para corno gravídico, e as outras artérias convergindo para a região da placenta referente ao corpo do útero e o corno não gravídico caracterizando deste modo vasculatura Tipo I. Na Figura 2 é possível observar a diferença em relação a convergência das artérias umbilicais, sendo uma artéria convergindo do corno gravídico e corpo uterino, enquanto as outras convergem para o corno não gravídico, caracterizando a vasculatura placentária Tipo II.

Alterações no Cordão Umbilical

As maiores perdas durante a gestação são decorrentes de alterações de origem infecciosa, comprometendo a membrana corioalantóide e resultando em abortos, partos prematuros ou nascimento de neonatos não viáveis (Hong et al., 1993; Le Blanc et al., 2004). Entretanto, as anomalias de cordão umbilical têm sido descritas como a principal causa de abortos de origem não infecciosa, sendo descrito de 16% a 60,5% de perdas gestacionais em equinos na Europa e Estados Unidos (Laugier et al., 2011; Snider, 2007; Smith et al., 2008). Em humanos, a torção do cordão umbilical ocorre em cerca de 23% e 37% das gestações (Bencharif et al., 2010).

As lesões observadas nesses quadros incluíram torção excessiva, com edema e hemorragia abundante, áreas de estenose, dilatação de útero e/ou veia umbilical. A identificação de hemorragia e desgarro da túnica íntima vascular, são indicativos de torção excessiva ou mesmo tração intrauterina ou durante o parto. O feto pode muitas vezes apresentar-se autolisado, devido a expulsão ocorrer várias horas após a morte. Por vezes, o cordão umbilical pode estar enrolado em um apêndice fetal, obstruindo o fluxo sanguíneo e cursando com o aborto (Snider, 2007).

Em estudo de Whitwell. (1975), na Raça Puro Sangue Inglês, salienta que muitas mortes fetais de causa desconhecida entre 7 e 10 meses de gestação coincidem com os cordões com mais de 80 cm, o que sugere que esses abortos poderiam estar ligados a anormalidades não diagnosticados de cordão umbilical.

Cordões excessivamente longos podem ser um fator predisponente para problemas circulatórios e, conseqüentemente, causar aborto (Laugier et al., 2011), sendo que fetos que apresentaram cordões com comprimento acima de 80cm, apresentam risco três vezes maior de apresentar torção (Whitwell, 1975).

Além da torção e risco de aborto, cordões excessivamente longos estão associados a mudanças degenerativas nos microcotilédones e insuficiência placentária, que podem levar ao comprometimento do crescimento fetal (Frazer, 2007). Embora isso obviamente, tenha influência sobre a saúde fetal, nenhum estudo foi publicado para avaliar os efeitos sobre o crescimento ou o desempenho neonatal e/ou adulto de fetos que sobreviveram.

Quadros de implantação do cordão umbilical no corno não gestante estão relacionados a cordões umbilicais longos (Whitehead et al., 2005 apud Chenier, 2011). O mecanismo associado a essa situação não está bem esclarecido. Sugere-se que esta circunstância pode ser devido ao cordão longo permitir a migração do feto para o corno oposto durante a gestação, ou inversamente, o cordão longo se desenvolve em consequência à cinética fetal, enquanto o feto é transportado para o corno oposto (Chenier, 2011).

A espiral anatômica normal deve ser diferenciada de torção do cordão, que é patológica e provoca restrição do fluxo de sangue. Uma leve torção do cordão pode não ter efeito prejudicial detectável, entretanto ao atingir um certo grau, como 180° C ou acima, leva ao estrangulamento com restrição de fluxo, e conseqüentemente pode causar sofrimento fetal agudo (com morte fetal e aborto), ou subagudo (com compressão sanguínea e insuficiência placentária crônica resultante). Torção do segmento amniótico do cordão pode levar a constrição do fluxo de urina através úraco, resultando em distensão da bexiga (Schlafer, 2004).

Edema e hemorragia estão presentes em torções excessivas, mas em casos com apenas algumas voltas, as alterações no cordão podem ser mínimas ou sem manifestação evidente (Schlafer, 2004).

Alterações do Funículo Umbilical no Neonato

A ruptura do cordão umbilical em fetos normais ocorre no máximo 10cm de distância da parede abdominal. Entretanto, em neonatos prematuros, imaturos ou mesmo que apresentem alterações nessa região, podem ocorrer sangramentos excessivos ou resultar em separação anormal favorecendo entrada de agentes infecciosos, e conseqüente alterações nesse remanescente do funículo umbilical (Allen et al., 2002).

Os distúrbios encontrados nos remanescentes umbilicais podem ser divididos de acordo com a sua causa, diferenciando-se entre infecciosas como a onfalite ou onfaloflebite, e não infecciosas, que incluem o úraco persistente e hérnia umbilical (White & Huff, 1998).

Após a ruptura do cordão umbilical no momento do parto, seus remanescentes podem se tornam uma porta de entrada para agentes patogênicos, nos casos em que os cuidados com a limpeza local não são adequados (Adams, 1990). As onfalopatias são caracterizadas por processos extra-abdominais, chamados de onfalites, nas quais o tronco umbilical remanescente é acometido, e de acordo com a estrutura acometida, pode ser classificado como onfaloflebite, onfaloarterite, onfalourquite e suas combinações (Sturion et al., 2013).

Nas enfermidades não infecciosas, a hérnia umbilical é a segunda patologia congênita mais comum em neonatos, ocasionada pelo fechamento incompleto da parede ao redor do umbigo, causando uma aposição do peritônio na fáscia e pele. Fatores como a tração excessiva do cordão, infecções umbilicais e o rompimento manual do cordão umbilical predis põem o desenvolvimento de hérnias (Nyberg et al., 2002).

Hérnias umbilicais são facilmente reconhecidas através da inspeção e palpação do local. Em sua maioria as hérnias umbilicais são pequenas, indolores a palpação e podem se fechar espontaneamente

(até seis meses) sem necessidade de intervenção. Entretanto, as mais extensas podem apresentar um risco maior de complicações como estrangulamento e encarceramento de alças intestinais e abscesso umbilical, e por isso deve-se avaliar a necessidade de tratamento cirúrgico (Orsini, 1997).

O úraco é a comunicação fisiológica entre a bexiga e alantocóron durante a vida fetal, permitindo que a urina passe para cavidade alantoideana (Madigam & House, 2002). Após a ruptura do cordão umbilical, o úraco se fecha e o fluxo de urina é interrompido nas primeiras 24 horas de vida do potro. A principal alteração do funículo umbilical é o “úraco persistente” que consiste na falha do fechamento dessa estrutura nesse período de 24 horas ou quando ocorre a reabertura do úraco dias após o nascimento (Stoneham & Munroe, 2013). Os sinais clínicos mais evidentes são o gotejamento de urina e inchaço ao redor do umbigo, o qual ocorre por ação irritativa da própria urina nessa região, ou pode ser sugestivo de um processo infeccioso nessa região. A persistência do úraco é um distúrbio que pode ocorrer de forma congênita associada a quadros de imaturidade neonatal ou secundária a casos de septicemia neonatal (Knottenbelt et al., 2004).

O diagnóstico é feito com maior frequência clinicamente, a partir da visualização do sinal clínico do gotejamento ou vazamento de urina pelo tronco umbilical, esporadicamente ou durante a micção. O qual pode ser confirmado no exame ultrassonográfico da região (Paradis, 2006).

Na maioria dos casos ocorre a oclusão e regressão espontânea do úraco persistente somente com a limpeza e desinfecção, por imersão do coto umbilical em soluções a base de iodo (Mcauliffe & Knottenbelt, 2014). Entretanto, se mesmo após a imersão não houver resolução do quadro, é recomendado o encaminhamento cirúrgico (Knottenbelt et al., 2004).

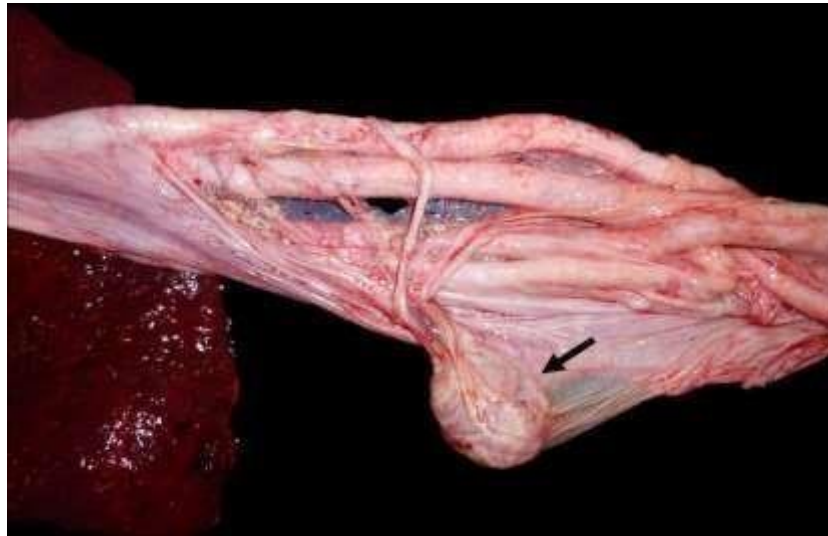
Achados Casuais

Um dos achados mais peculiares na espécie equina é a calcificação dos remanescentes do saco vitelino, geralmente associada à hiperplasia e hipertrofia dos tecidos adjacentes (Figura 3, arquivo pessoal). Em geral são estruturas pequenas, porém podem aparecer como grandes massas pedunculadas ligadas ao segmento alantóide do cordão umbilical por uma haste de tecido (Whitwell, 1975).

As estruturas de saco vitelínico calcificadas podem ser erroneamente diagnosticadas como sendo um feto gêmeo mumificado. Isso provavelmente devido duas razões; a primeira devido a eventual similaridade com o *amorphus globosus* que ocorre na espécie bovina (anomalia fetal do desenvolvimento que ocorre em gestações múltiplas em bovinos). E a segunda razão devido a aparência macroscópica do remanescente do saco vitelino ossificado equino possuir o formato esférico com placas calcificadas na superfície externa e repletas de fluido, o que pode assemelhar-se a uma cabeça malformada (Schlafer, 2004).

A ocorrência de ossificação do saco vitelínico ocorre somente na espécie equina, sendo relevantes somente nos casos que promovem interferência mecânica no fluxo de sangue do cordão umbilical para a placenta, o que pode levar a hipóxia fetal e provocar aborto (Schlafer, 2004).

Figura 2. Presença de remanescente de saco vitelínico em porção média de cordão umbilical, demonstrando forma esférica.



Fonte: Arquivo pessoal

Na Figura 2 é evidenciada a presença de uma massa esférica e pendular (seta) na porção média do cordão umbilical I, que caracteriza o remanescente de saco vitelínico. Sendo esse um achado casual da avaliação do cordão umbilical equino no pós-parto imediato.

Áreas de edema próximo ao local de ruptura do cordão e na região de inserção do mesmo na membrana amniótica são achados casuais comuns. Casos de alterações patológicas, como em torções graves, as áreas de edema frequentemente são acompanhadas de hemorragias e/ou petéquias locais.

No cordão umbilical também podem estar presentes placas amnióticas (Figura 4, arquivo pessoal), caracterizadas por pequenas placas queratinizadas (1 a 3mm) com aspecto de grumos, dispersas uniformemente e que se projetam ligeiramente para superfície externa, porém não apresentam uma importância funcional descrita. As mesmas são visualizadas principalmente na superfície interna do âmnio e na superfície externa do segmento amniótico do cordão umbilical, local de inserção da porção amniótica. Microscopicamente são compostas de epitélio amniótico que sofreu metaplasia escamosa (Schlafer, 2004).

Figura 3. Placas amnióticas, presentes na porção amniótica do cordão umbilical.



Fonte: Arquivo Pessoal.

Na Figura 3 observamos o cordão umbilical coberto por placas amnióticas queratinizadas, um achado casual que pode ser observado na avaliação pós-parto. As mesmas são visualizadas nestes pequenos grumos amarelados se projetando na superfície externa do segmento amniótico do cordão.

Conclusão

A avaliação do cordão umbilical no pós-parto imediato é importante para auxiliar no reconhecimento das características morfológicas e alterações não observadas durante a gestação. É imprescindível saber diferenciar achados casuais de alterações que possuem relevância clínica durante a avaliação do cordão umbilical em equinos.

Estudos futuros são necessários para a identificação e descrição detalhada das diferenças morfológicas do cordão umbilical equino em relação as particularidades de cada raça.

Referências

- Adams, S. B. Urachal and umbilical disease. (1990). *Equine Clinical Neonatology*, Philadelphia.
- Allen, W. R., Wilsher, S., Turnbull, C., Stewart, F., Ousey, J., Rosedale, P. D. & Fowden, A. L. (2002) Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. *J. Development in utero. Reproduction* 123, 445-453.
- Bencharif, D. (2010). Case Study of Abortion in a Mare: Coelosomy with urachal dilatation following umbilical cord torsion. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30(4), 208-212.
- Carvalho, F. R., Miglino, M. A., Severino, R. S., Ferreira, F. A., & Santos, T. C. (2001). Aspectos morfológicos do funículo umbilical em equinos (*Equus caballus*, Linnaeus, 1758). *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, 38(5), 214-219.
- Chenier, T. "The importance of thorough evaluation of the fetal membranes of the mare. (2011). " *Equine Veterinary Education* 23.3: 119-120.
- Frazer, G. S. Comprometimento do cordão umbilical como causa do aborto. (2007). *Equine Vet Educ*; 19: 535- 7.
- Hong, C. B., Donahue, J. M., Giles, R. C., Petrites-Murphy, M. B. Jr., Poonacha, K. B., Roberts, A. W., Smith, B. J., Tramontin, R. R., Tuttle, P. A., & Swerczek, T. W. (1993). Etiology and Pathology of Equine Placentitis. *Journal Veterinary Diagnostic and Investigation*, 5, 55-63.
- Knottenbelt, D. C, Holdstock, N., & Madigan, J. E. (2004). Equine Neonatology Medicine and Surgery, *Elsevier Science Limited*, 6, 155-365.
- Laugier, C., Foucher, N., Sevin, C., Leon, A., & Tapprest, J. (2011). A 24-Year retrospective study of equine abortion in Normandy (France). *Journal of Equine Veterinary Science*. 31, 116-123.
- Le Blanc, M. M.; Macpherson, M.; & Sheerin, P. (2004). Ascending Placentitis: What We Know About Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Proceedings of 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, v.50.
- Madigan, J. E., & House, J. K. (2002). Patent urachus, omphalitis, and other umbilical abnormalities. *Smith BP, ed: Large animal internal medicine*, (3a ed.), Mosby.

- Machin, G. A., Hackerman, J., & Gilber-Barness, E. (2000). Abnormal umbilical cord coiling is associated 296 with adverse perinatal outcomes. *Pediatr Dev Pathol*; 3:462-71.
- Mariela, J., Iacomo, E., Lanci, A., Merlo, B., Palermo, C., Morris, L., & Castadnetti, C. (2018) Características macroscópicas do cordão umbilical em cavalos Standardbred, Thoroughbred e Warmblood. *Theriogenology* 113 166 e 170.
- McCaulliffe, S. B., & Knottenbelt, D. (2014). Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse, *Elsevier Saunders*, 5, 196-217.
- McGeady, T. A.; Quinn, P. J.; & Fitzpatrick, E. S. (2006). Cardiovascular system. In: McGeady, T. A. *Veterinary Embryology*, ed. *Blackwell Publishing*, Oxford. 126-127.
- Nyberg, D. A., McGaha, J. P., Pretorius, D. H., Pilu, G. (2002). The placenta, umbilical cord and membranes. *Diagnostic Imaging of Fetal Anomalies*, 2nd edn., Lippincott, Williams and Wilkin, Philadelphia, PA. 85-132.
- Orsini, J. A. (1997). Management of umbilical hernias in the horse: treatment options and potencial complications. *Equine Veterinary Education*. 9, 710.
- Paradis, M. R. (2006). Equine Neonatal Medicine, A Case-Based Approach, *Elsevier Saunders*, Philadelphia, PA, 12, 231-245.
- Pazinato, F. M.; Curcio, B. R.; Fernandes, C. G.; Feijó, L.; Schmith, R. A.; & Nogueira, C. E. W. (2016). Histological features of the placenta and their relation to the gross and data from Thoroughbred mares. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36(7), 665-670.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. 1ª Edição UBA/NTE/UFSM, Universidade de Santa Maria.
- Pieszak, G. M., Gomes, G. C., & Rodrigues, A. P. (2020). Fatores que interferem no processo de parto e nascimento: revisão interativa da literature. *Research, Society and Development*, 9(7).
- Rossdale, P. D., & Ricketts, S. W. (2002). Evaluation of the fetal membranes at foaling. *Equine Vet Educ*, 5, 78e82.
- Schlafer, D. H. (2004) a. Postmortem examination of the equine placenta, fetus, and neonate: methods and interpretation of findings. In: Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, Colorado, USA, 4-8 December, 2004. American Association of Equine Practitioners (AAEP), p. 144-161.
- Smith, K. C.; Blunden, A. S.; Whitwell, K. E.; Dunn, K. A.; & Wallis, A. D. (2008). A Survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. *Equine Vet J*; 35; 496-501.
- Snider, T. A. (2007). Umbilical cord torsion and coiling as a cause of dystocia and intrauterine foal loss. *Equine Veterinary Education*, 19(10), 532-534.
- Stoneham, S., & Munroe, A. G., In: Munroe, A. G., & Weese, J. S. (2011). Equine Clinical Medicine Surgery, and Reproduction, *Manson Publishing Ltd*, c. 14, 966-995.

Sturion, T. T.; Sturion, M. A. T., Sturion, D. J.; & Lisboa, J. N. (2013). Ultrasound evaluation of extra- and intra-abdominal umbilical structures involution in healthy Nelorecalves products of natural conception or *in vitro* fertilization. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. vol.33 no.8 Rio de Janeiro Aug.

White, S. L., & Huff, T. (1998). Retrospective study of surgical vs. medical management of umbilical remnant infections in neonates, *Dorothy R. Havemeyer Neonatal Septicemia Workshop*, Boston, 48.

Wilsher, S.; Ousey, J.; Whitwell, K.; et al. (2011). Three types of anomalous vasculature in the equine umbilical cord. *Equine Veterinary Education*, 23(3), 109-118.

Whitwell, K. E. (1975). Morphology and pathology of the equine umbilical cord. *Journal of reproduction and fertility*, Supplement 23, 599-603.

Whitwell, K. E. (1982). Investigations into fetal and neonatal losses in the horse. *Vet Clin N Am Larger Anim Pract*; 2, 313-3.

3 Considerações Finais

De forma inédita se caracterizou o alantocórion a termo e do cordão umbilical de éguas saudáveis da raça Crioula. A partir do presente estudo, foi possível traçar um modelo de medidas lineares e foram descritas as médias histomorfométricas microcotiledonares e capilares microcotiledoárias, obtendo um padrão médio para a raça. As medidas lineares da placenta apresentaram correlação positiva com a biometria neonatal dos potros. Na histomorfometria, os achados do corno gravídico apresentaram forte correlação positiva, sendo a área microcotiledonária com o tempo de eliminação de placenta e a área capilar com o peso do potro ao nascer. Se estabeleceu para a raça crioula, um comprimento médio do cordão umbilical de 54 cm, tendo como seu padrão usual vascular tipo I e padrão de fixação na superfície alantóide dorsal.

Ainda o trabalho pode descrever a técnica do uso da análise digital de imagens para avaliação da histomorfometria microcotiledonária de placentas equinas a termo, demonstrando a mesma como uma ferramenta adequada para obtenção de informações objetivas dessa estrutura. Proporcionando uma compreensão mais detalhada da arquitetura microscópica da placenta nas diferentes porções.

O presente estudo alcançou seus objetivos ao descrever as técnicas de análise e as medidas padrões para a morfometria e estereologia da raça Crioula.

Referências

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALOS CRIoulos. Regulamento do Registro Genealógico da Raça Crioula. Disponível em: Acesso em: 06 de janeiro de 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAVALO. Regulamento do Registro Genealógico da Raça Crioula. Disponível em: Acesso em: 06 de janeiro de 2022.
- ABD-ELNAEIMI, M. M. M.; LEISER, R.; WILSHER, S.; ALLEN, W. R. Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. **Placenta**, New York, v.27, p.1103-1113, 2006.
- ADAMS, S. B. Urachal and umbilical disease. **Equine Clinical Neonatology**, Philadelphia, 1990
- ALLEN, W. R., WILSHER, S., TURNBULL, C., STEWART, F., OUSEY, J., ROSSDALE, P. D. & FOWDEN, A. L. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. **Development in utero. Reproduction** 123, 445-453, 2002
- ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **Reproduction**. v. 121, p. 513-527. 2005.
- ARORA, S. K.; DEY, P. Fractal and lacunar dimension of the chorionic villi of molar pregnancy. **Analytical and Quantitative Cytology and Histology**, Washington, v.33, n.2 p. 82-84, 2011.
- BENCHARIF, D. (2010). Case Study of Abortion in a Mare: Coelosomy with urachal dilatation following umbilical cord torsion. **Journal of Equine Veterinary Science**, 30(4), 208-212, 2010.
- BIANCO, C.; PIRRONE, A.; BOLDINI, S.; SARLI, G.; CASTAGNETI, C. Histomorphometric parameters and fractal complexity of the equine placenta from healthy and sick foals. **Theriogenology**, New York, v.82, n.8, p.1106-1112, 2014.
- BUCCA, S. Diagnosis of the compromised equine pregnancy. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, New York, v.2, p.749-761, 2006.
- CARVALHO, F. R., MIGLINO, M. A., SEVERINO, R. S., FERREIRA, F. A., & SANTOS, T. C. Aspectos morfológicos do funículo umbilical em equinos (*Equus caballus*, Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, 38(5), 214-219, 2001.
- CHENIER, T. "The importance of thorough evaluation of the fetal membranes of the mare. **Equine Veterinary Education** 23.3: 119-120, 2011.
- COTTRILL, C.M; JEFFERS-LO J; OUSEY, J.C; McGLADDERY, A.J, RICKETTS, S.W; SILVER. M; ROSSDOLELE, P.D. The placenta as a determinant of fetal

wellbeing in normal and abnormal pregnancies. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 591-601, 1991.

CROSS, S. S.; HOWAT, A. J.; STEPHENSON, T. J.; COTTON, D. W.; UNDERWOOD, J. C. Fractaç geometric anaçysis of material from molar and non-molar pregnancies. The **Journal of Pathology**, v.173, n.2, p.115-118, 1994.

ELLIOTT, C.; MORTON, J.; CHOPIN, J. Factors affecting foal birth weight in Thoroughbred horses. **Theriogenology**, v.71, p.683- 689, 2009.

FERREIRA, A. A.; KRAUSE, C. I.; COSTA, M. H.; RIVERO, E. R. C.; TARQUÍNIO, S. B. C. An image processing software applied to oral pathology. **Pathology – Research and Practice**, New York, v. 207, p. 232-235, 2011.

FRAZER, G. S. Comprometimento do cordão umbilical como causa do aborto. **Equine Vet Educ**; 19: 535- 7, 2007.

FOWDEN, A.L., FORHEAD, A.J., OUSEY, J.C. The endocrinology of equine parturition. **Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes** 116, 393–403, 2008.

GRIFFIN, P.G.; GINTHER, O.J. Uterine morphology and function in postpartum mares. **J Equine Vet Sci**, 11:330, 1991.

GOVAERE, J.; HOOGEWJJ, C.; SCHAWER, D.; ROELS, K.; VANHAESEBROUCK. E.; DE LANGE, V. Placenta evaluation in Warmblood horses. **J Equine Vet Sci** 34:237, 2014

HAY, W.W. Regulation of placental metabolismo by glucose supply. Repruduction Fertility Development, v.7, n.3, p 365-375, 1995.

HELMY, I. M.; ABDEL-AZIM, A. M. Efficacy of ImageJ in the assessment of apoptosis. **Diagnostic Pathology**, London, v.7, n.15, p.1-6, 2012.

HIGGINS, M.; FELLE, P.; MOONEY, E.E., BANNIGAN, J.; McAULIFFE, F.M. Stereology of the placenta in type 1 and type 2 diabetes. **Placenta**, 32: 564–569, 2011.

HONG, C. B., DONAHUE, J. M., GILES, R. C, PETRITES-MURPHY, M. B. Jr., POONACHA, K. B., ROBERTS, A. W., SMITH, B. J., TRAMONTIN, R. R., TUTTLE, P. A., & SWERCZEK, T. W. Etiology and Pathology of Equine Placentites. **Journal Veterinary Diagnostic and Investigation**, 5, 55-63, 1993.

KNOTTENBEL, D. C, HOLSTOCK, N., & MADIGAN, J. E. Equine Neonatology Medicine and Surgery, **Elsevier Science Limited**, 6, 155-365, 2004.

JANSSON, T.; POWELL, T. L. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? **A review. Placenta**, v.27, p.91-97, 1993.

LAUGIER, C., FOUCHER, N., SEVIN, C., LEON, A., & TAPPREST, J. A 24-Year retrospective study of equine abortion in Normandy (France). **Journal of Equine Veterinary Science**. 31, 116-123, 2011.

LE BLANC, M. M.; MACPHERSON, M.; & SHEERIN, P. Ascending Placentitis: What We Know About Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. **Proceedings of 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners**, v.50, 2004.

LIMA, R.A.S; CINTRA, A.G. Estudo do Complexo do Agronegócio do cavalo. Brasília: **Ministry of Livestock Farming and Food Supply of Brazil**, 56p, 2016.

KOTERBA, Anne M. Physical examination. In: **Equine Clinical Neonatology**. Philadelphia, Ed. Lea & Febiger, p. 71-85, 1990.

MACDONALD, A. A.; CHAVATTE, P.; FOWDEN, A. L. Scanning electron microscopy of the microcotyledonary placenta of the horse (*Equus caballus*) in the latter half of gestation. **Placenta**, New York, v.21, n.5-6, p.565–574, 2020.

MEIRELLES, M.G; VERAS, M.M.; ALONSO, M.A.; GUIMARÃES, F.G.; NICHI, M., FERNANDES, C.B. Influence of maternal age and parity on placental structure and foal characteristics from birth up to 2 years of age. **Journal of Equine Veterinary Science**. vol 56, p.68-79, 2017.

MADIGAN, J. E., HOUSE, J. K. Patent urachus, omphalitis, and other umbilical abnormalities. **Smith BP, ed: Large animal internal medicine**, (3a ed.), Mosby, 2002.

MACHIN, G. A, HACKERMAN, J., GILBER-BARNESS, E. Abnormal umbilical cord coiling is associated 296 with adverse perinatal outcomes. **Pediatr Dev Pathol**; 3:462-71, 2000.

MARCONI, A. M.; PAOLINI, C. L.; STRAMARE, L.; CETIN, I.; FENNESSEY, P. V.; PARDI, G.; BATTAGLIA, F. C. Steady state maternal-fetal leucine enrichments in normal and intrauterine growth-restricted pregnancies. **Pediatric Research**, v.46, n.1, p.114-119, 1999.

MARIELA, J., IACOMO, E., LANCI, A., MERLO, B., PALERMO, C., MORRIS, L., & CASTADNRTTI, C. Características macroscópicas do cordão umbilical em cavalos Standardbred, Thoroughbred e Warmblood. **Theriogenology** 113 166 e 170, 2018.

MCAULIFFE, S. B., & KNOTTENBEL, D. Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse. **Elsevier Saunders**, 5, 196-217, 2014.

MCGEADY, T. A.; QUINN, P. J.; & FITZPATRICK, E. S. Cardiovascular system. In: McGeady, T. A. **Veterinary Embryology**, ed. **Blackwell Publishing**, Oxford. 126127, 2006.

NYBERG, D. A., MCGAHA, J. P., PRETORIUS, D. H., PILU, G. The placenta, umbilical cord and membranes. **Diagnostic Imaging of Fetal Anomalies**, 2nd edn., Lippincott, Williams and Wilkin, Philadelphia, PA. 85-132, 2002.

ORSINI, J. A. Management of umbilical hernias in the horse: treatment options and potencial complications. **Equine Veterinary Education**. 9, 710, 1997.

- OZERDEM, U.; WOJCIK, E. M.; BARKAN, G. A.; DUAN, X.; ERSAHIN, Ç. A practical application of quantitative vascular image analysis in breast pathology. **Pathology – Research and Practice**, New York, v. 209, p. 455-458, 2013.
- PARADIS, M. R. Equine Neonatal Medicine, A Case-Based Approach, **Elsevier Saunders**, Philadelphia, PA, 12, 231-245, 2006.
- PAZINATO, F. M.; CURCIO, B. R.; FERNANDES, C. G.; FEIJÓ, L.; SCHMITH, R. A.; & NOGUEIRA, C. E. W. Histological features of the placenta and their relation to the gross and data from Thoroughbred mares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(7), 665-670, 2016.
- PEREIRA, A. S., SHISUKA, D. M., PARREIRA, F. J., & SHITSUKA, R. Metodologia da pesquisa científica. **1ª Edição UBA/NTE/UFSM**, Universidade de Santa Maria, 2018.
- PIESZAK, G. M., GOMES, G. C., RODRIGUES, A. P. Fatores que interferem no processo de parto e nascimento: revisão interativa da literature. **Research, Society and Development**, 2020.
- REYNOLDS, L.P.; CATON, J.S.; REDMER, D.A.; GRAZULBILSKA, A.T.; VONNAHME, K.A.; BOROWICZ, P.P.; LUTHER, J.S.; WALLACE, J.M.; WU, G.; SPENCER, T.E. Evidence for altered placental blood flow and vascularity in compromised pregnancies. **The Journal of Physiology**, v.572, p.51-58, 2006.
- ROBLES, M.; PEUGNET, P.M.; VALENTINO, S.A.; DUBOIS, C.; DAHIREL, M.; AUBRIERE, M.C. Placental structure and function in different breeds in horses. **Theriogenology** 108:136e45, 2017.
- ROSSDALE, P.D. Equine Abortion. In: **Vet. Annual**. 16, 133-141, 1979.
- ROSSDALE, P. D., & RICKETTS, S. W. Evaluation of the fetal membranes at foaling. **Equine Vet Educ**, 5, 78e82, 2002.
- SAMUEL, C. A.; ALLEN, W. R.; STENEN, H. D. Studies on the equine placenta. I. Development of the microcotyledons. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.41, n.2, p.441-445, 1974.
- SCHLAFER, D. H. Postmortem examination of the equine placenta, fetus, and neonate: methods and interpretation of findings. In: Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, Colorado, USA, 4-8 December, 2004. **American Association of Equine Practitioners (AAEP)**, p. 144-161, 2004.
- SIBLEY, C.P.; TURNER, M.A.; CETIN, I.; AYUK, P.; BOYD, C.A.R.; D'SOUZA S.W, GRAZIER T.C.; Greenwood, SL, Jasson T, Poweel T. Placental phenotypes of intrauterine growth. **Pediatric Research**, v, 58; p.827-832, 2015.
- SMITH, K. C.; BLUNDEN, A. S.; WHITWELL, K. E.; DUNN, K. A.; & WALLIS, A. D. A Survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. **Equine Vet J**; 35; 496-501, 2008.

SNIDER, T. A. Umbilical cord torsion and coiling as a cause of dystocia and intrauterine foal loss. **Equine Veterinary Education**, 19(10), 532-534, 2007.

STONEHAM, S., & MUNROE, A. G. Equine Clinical Medicine Surgery, and Reproduction, **Manson Publishing Ltd**, c. 14, 966-995, 2011.

STURION, T. T.; STURION, M. A. T.; STURION, D. J.; & LISBOA, J. N. Ultrasound evaluation of extra- and intra-abdominal umbilical structures involution in healthy Nelore calves products of natural conception or *in vitro* fertilization. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. vol.33 no.8 Rio de Janeiro Aug, 2013.

VALLET, J.L.; FREKING, B.A. Differences in placental structure during gestation associated with large and small pig fetuses. **The Journal of Animal Science**, v.85, p. 3267-3275, 2007.

VERONESI, M.C.; VILLANI, M.; WILSHER, S.; CONTRI, A., CARLUCCIO, A. A comparative stereological study of the term placenta in the donkey, pony and Thoroughbred. **Theriogenology**, New York, v.74, n.4, p.627-631, 2010.

WILSON, M.E.; FORD, S.P. Comparative aspects of placental efficiency. **Reproduction**, v.58, p. 223-232, 2001.

WHILE, S. L., & HUFF, T. Retrospective study of surgical vs. medical management of umbilical remnant infections in neonates, **Dorothy R. Havemeyer Neonatal Septicemia Workshop**, Boston, 48, 1998.

WILSHER, S.; ALLEN, W.R.; TURNBULL, C.; ROELS, K.; VANHAESEBROUCK, E. Influência do tamanho materno no crescimento placentário, fetal e pós-fetal no cavalo. **I.Des. in útero. Reprodução**, 123:445-453, 2002.

WILSHER, S.; ALLEN, W. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. **Equine Vet. J.**, 35, 476- 483, 2003.

WILSHER, S.; OUSEY, J.; WHITWELL, K. Three types of anomalous vasculature in the equine umbilical cord. **Equine Veterinary Education**, 23(3), 109-118, 2011.

WILSHER, S.; ALLEN, W. R. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. **Equine Veterinary Journal**, New Market, v.35, n.5, p.476-483, 2012.

WILSHER, S.; BOWKER, A.; SILVA, J.; ALLEN, T. Morphological characteristics of the placenta and umbilical cord of Arabian mares foaling in the United Arab Emirates. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v.91, p.103124, 2020.

WHITEHEAD, A.E.; CHENIERH, T.S.; FOSTER, R.A. Placental characteristics of Standardbred mares. **Proc Am Ass Equine Practnrs** ;51:215-220, 2005.

WHITWELL, K.E.; JEFFCOTT, L.B. Morphological studies on the fetal membranes of the normal singleton foal at term. **Res Vet Sci**;19:44-55, 1975.

WHITWELL, K.E. Evaluation of fetal membranes at foaling. In: Rosdales PD, Ricketts SW, editors. Equine veterinary education manual. 5th Ed. UK: **Equine Veterinary Journal**, Ltd. Newmarket, p. 78e82, 2002.

Anexos

Anexo A - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal

06/07/2021

SEI/UFPel - 1335610 - Parecer



PARÉCER Nº
PROCESSO Nº

49/2021/CEEA/REITORIA
23110.032594/2020-28

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **“Estudo morfométrico da placenta e cordão umbilical no pós-parto em éguas da raça crioula.”**, registrada com o nº 23110.032594/2020-28, sob a responsabilidade de **Bruna da Rosa Curcio** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **11 de junho de 2021**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	18/06/2021
Espécie/linhagem/raça	Equina/Crioula
Nº de animais	86
Idade	24 fêmeas de 4-19 anos e 62 potros de 1 dia
Sexo	55 fêmeas e 31 machos
Origem	Centro de Ensino e Experimentação em Equinos da Palma - UFPel Cabanha Crioula da Serra, Rio Grande – RS

Código para cadastro nº CEEA 32594-2020

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário**, em 18/06/2021, às 10:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1335610** e o código CRC **CDF88A4E**.