

## EXPRESSÕES GÊNICAS NAS MEMBRANAS EXTRAEMBRIÓNICAS E SUAS CONEXÕES NA ESPÉCIE DE MURINA E BOVINA

Bruno Machado Bertassoli<sup>1</sup>, Francielusa Delys de Oliveira<sup>1</sup>; Amilton Cesar dos Santos<sup>2</sup>; Maria Angélica Miglino<sup>3</sup>; Antônio Chaves de Assis Neto<sup>4</sup>

### RESUMO

O presente artigo teve por objetivo revisar a literatura sobre os genes envolvidos nos anexos extraembrionários e conexões vitelínicas nas espécies murina e bovina. Os vertebrados vivíparos desenvolvem um sistema complexo de membranas nutricionais que envolvem o feto. A ocorrência das quatro membranas extraembrionárias (âmnio, córion, alantoide e saco vitelino) é um fato tido como comum a maioria das espécies vivíparas. Estas membranas sofrem modificações morfológicas, interagindo entre si e formando complexos funcionais ou mesmo involuindo com o decorrer da gestação. Existem genes expressos nas membranas extraembrionárias, onde genomas maternos e paternos são necessários para o desenvolvimento dos mamíferos, indicando que não são equivalentes sugerindo a existência de genes que mostram sua expressão. A literatura consultada suporta a ideia de que em determinadas fases de desenvolvimento embrionário, existem fusões de membranas extraembrionárias e justaposição das mesmas, onde ocorre a expressão de um grande número de genes, onde o erro ou não expressão de alguns genes nas membranas extraembrionárias, pode causar má formação ou não desenvolvimento do embrião.

**Palavras-chave:** *anexos extraembrionários; conexões vitelínicas; genes.*

### GENE EXPRESSION IN EXTRAEMBRYONIC MEMBRANES AND ITS CONNECTIONS IN MURINE AND BOVINE SPECIE

#### ABSTRACT

This article aims to review the literature about the genes involved in extraembryonic attachment and vitelline connections in murine and bovine species. The viviparous vertebrate develops a complex nutrient membrane system in order to surround the fetus. The occurrence of four extraembryonic membranes (amnion, chorion, allantois and yolk sac) is taken as a common fact to most viviparous species. These membranes undergo morphological changes, interacting with each other to form functional complexes or even they involute over the course of pregnancy. There are extraembryonic genes expressed on the membranes where maternal and paternal genomes are required to the development of mammals. Thus, it indicates that they are not equivalent, suggesting the presence of genes that show their expression. The aim of this paper was to make a review about genes involved in extraembryonic attachments and vitelline connections from murine and bovine species. The literature supports the idea that in certain phases of embryonic development there are fusions of extraembryonic membranes and juxtaposition thereof where occurs the expression of a large number of genes and the error or no expression of some genes in extraembryonic membranes might result in malformed or failure in development of embryos.

**Keywords:** *urban ecology; yards; participatory planning.*

## INTRODUÇÃO

Durante a prenhez, os vertebrados vivíparos desenvolvem um sistema complexo de membranas nutricionais que envolvem o feto. No local de aposição ou de união das membranas fetais com a mucosa uterina é formada a placenta, que é um órgão transitório formado por tecidos maternos e fetais, com a função de transportar substâncias nutritivas do organismo materno para o feto, bem como promover "trocas metabólicas" e desempenhar funções endócrinas quanto à produção de hormônios na

manutenção da gestação (1,2). Embora as interações materno fetal entre as espécies sejam bastante diferentes, algumas características podem ser mantidas, como exemplo a expressão gênica (1,3).

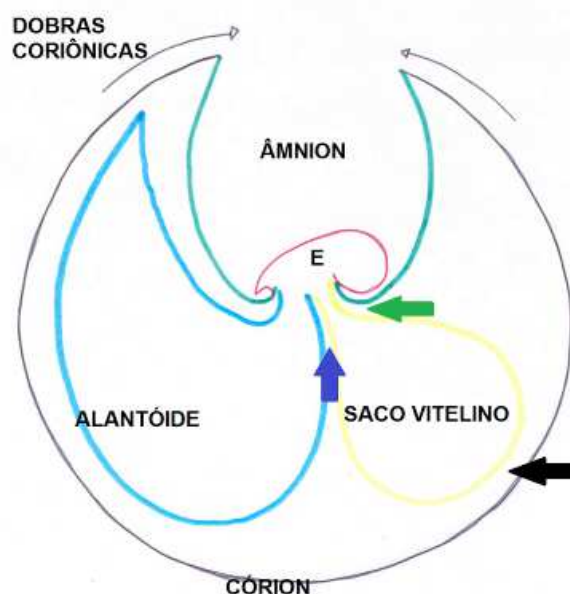
Em mamíferos superiores, o desenvolvimento das quatro membranas extraembrionárias (âmnio, córion, alantoide e saco vitelino) é um fato tido como comum a todas as espécies vivíparas (Figura 1). Estas membranas, no entanto, sofrem modificações morfológicas, interagindo entre si e formando

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Universidade de São Paulo – USP.

complexos funcionais ou mesmo envolvendo com o decorrer da gestação (4).

Uma membrana extraembrionária que desempenha um papel relevante para a sobrevivência inicial do embrião em muitas espécies de mamíferos é o saco vitelino, pois é a principal fonte de nutrição do embrião durante o período em que a placenta verdadeira ainda não está completamente formada. Sua relevância também está relacionada à hematopoese (5, 6, 7, 8), síntese proteica, atividade fagocitária, transferência de matérias. Contribui também originando células-tronco sanguíneas multipotentes, através de um processo denominado hematopoese (9,10, 11).

No saco vitelino também ocorrem os processos de angiogênese e vasculogênese que são controlados por uma série de sinalizações de expressões gênicas, incluindo as vias de crescimento VEGF e TGF- $\beta$  (12, 13). A camada epitelial do saco vitelino está em contato direto com uma extensa área do córion (trofoectoderma) e, em sua íntima aposição com o endométrio, posiciona-se para facilitar o transporte de nutrientes do útero para o embrião (2, 14, 15). O saco vitelino também mantém o desenvolvimento primário do feto produzindo um espectro de proteínas séricas (16, 17, 18, 19).



**Figura 1** – Esquema das membranas extraembrionárias em desenvolvimento e conexões vitelínicas em amniótas. SV saco vitelino; AL Alantóide; CO Córion; AM Âmnio; E Embrião. Conexão Amniotivitelínica (seta cheia verde); Conexão Córiovitelinica (seta cheia preta) e Conexão Alantovitelinica (seta cheia azul). Adpt. (20)

### DESENVOLVIMENTO DAS MEMBRANAS EXTRAEMBRIÓNICAS EM BOVINOS E MURINOS

Aos quinze dias de vida, o embrião bovino apresenta o saco vitelino grande em relação ao embrião e está justaposto com o córion. Entre 20 – 26 dias, o saco vitelino perde essa justaposição coriônica, entretanto, ainda apresenta um tamanho relativamente grande em relação ao embrião. Nos dias 27-29, o saco vitelino encontra-se bem desenvolvido, tanto na parte central como nas suas extremidades, e

alonga-se juntamente com a porção ventral do alantóide. No período de 30 a 32 dias, o saco vitelino apresentou-se ainda desenvolvido e também justaposto com o alantóide (21). Entre 42-48 dias, o saco vitelino apresenta-se em processo de regressão, justaposto ao âmnio (22). Com 50 dias, o saco vitelino encontra-se involuindo, e há uma justaposição das membranas córion e alantóide (23) (Quadro 1).

Na espécie bovina, existem certas fusões de membranas extraembrionárias em

determinadas datas (24). Essas fusões foram transcritas em um quadro abaixo (Quadro 2).

**Quadro 1-** Justaposição do saco vitelino com outros anexos extraembrionários em embriões de bovinos de idade gestacional de 15 a 48 dias (22, 23, 24).

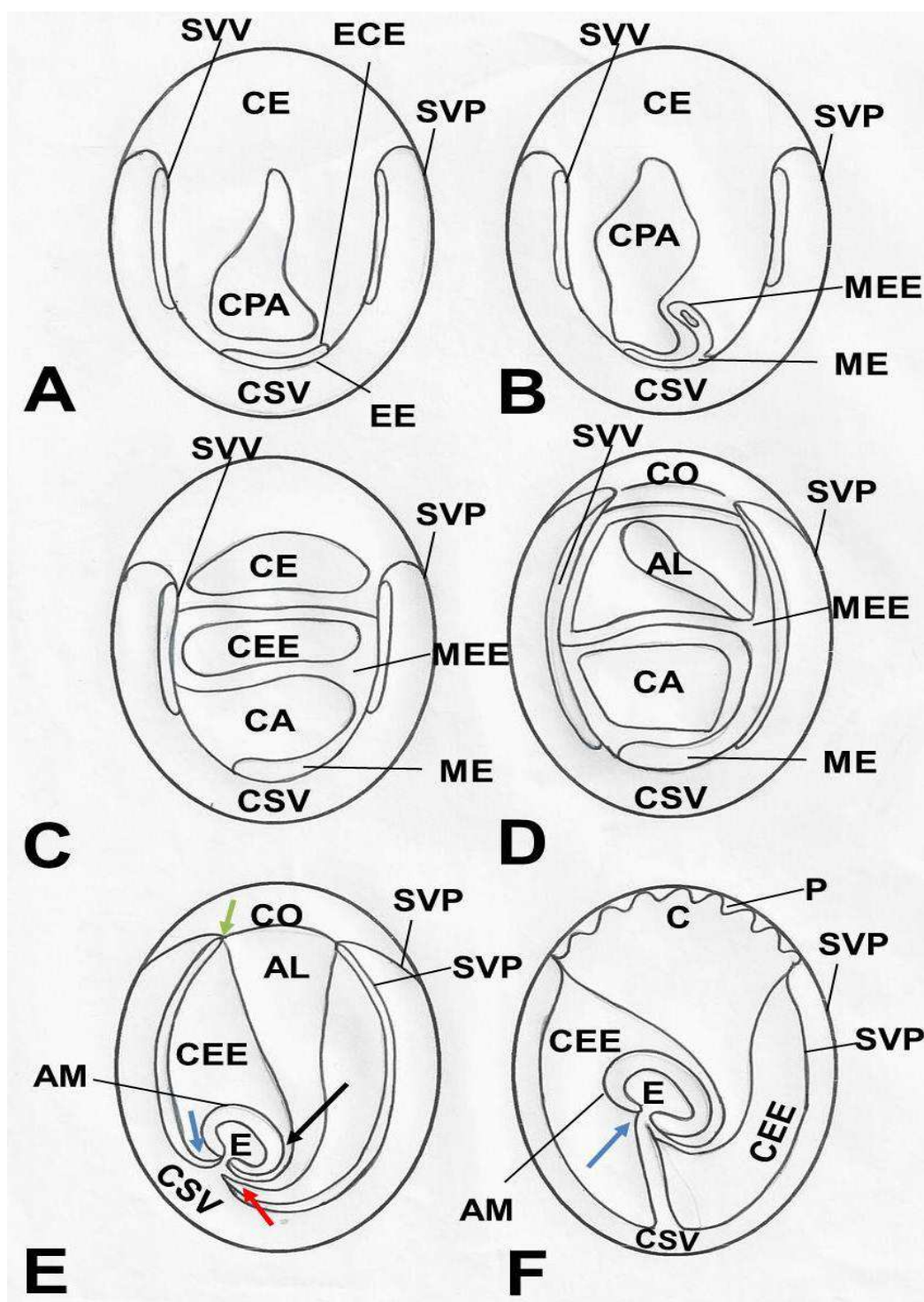
	15-20 dias	20-26 dias	27-29 dias	30-32 dias	42-48 dias
<b>Justaposição saco vitelino/córion</b>	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<b>Justaposição saco vitelino/córion</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<b>Justaposição saco vitelino/alantoide</b>	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
<b>Justaposição saco vitelino/âmnion</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente

**Quadro 2-** Desenvolvimento das fusões dos anexos extraembrionários em embriões bovinos de idade gestacional de 15 a 50 dias (22, 23, 24).

	15-20 dias	20-30 dias	30-40 dias	40-50 dias
<b>Fusão córion/alantoide</b>	Ausente	Ausente	Presente somente nas áreas próximas ao embrião	Presente
<b>Fusão alantoide/âmnion</b>	Ausente	Ausente	Presente e discreta	Presente
<b>Fusão córion/âmnion</b>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

No caso de murinos (25), com 8 dias inicia-se a formação da cavidade pró-amniótica (Fig. 2A); 9 dias formação do mesoderma extraembrionário (Fig. 2B); 9,5 dias formação das três cavidades (Fig. 2C); 10 dias desenvolvimento do broto alantoico (Fig. 2D),

com 11,5 dias inicia-se a formação da placenta córioalantoide, onde o alantoide cresce em direção ao córion (Fig. 2E) e aos 16 dias de gestação a placenta córioalantoide e o cordão umbilical já estão formados (Fig. 2F).



**Figura 2** – Esquema das membranas extraembrionárias e conexões vitelínicas no rato, onde: CSV cavidade do saco vitelino; CPA cavidade proamniótica; SVV saco vitelino visceral; SVP saco vitelino parietal; ECE ectoderma extraembrionário; EE ectoderma embrionário; ME mesoderma embrionário; MEE mesoderma extraembrionário; CEE celoma extraembrionário; CA cavidade amniótica; CO córion; AL Alantoide; AM Âmnio; E Embrião, P placenta, C Cordão Umbilical. **A)** 8 dias; **B)** 9 dias; **C)** 9,5 dias; **D)** 10 dias; **E)** 11,5 dias, conexão amniotivitelínica (seta azul), conexão córiovitelinica (seta verde), conexão alantovitelinica (seta vermelha), conexão alantoamniótica (seta preta); **F)** 16 dias conexão amniotivitelínica (seta azul). Adpt. (25)



## EXPESSÃO GÊNICAS EM MAMÍFEROS

Estudos anteriores sugeriram que ambos os genomas maternos e paternos são necessários para o desenvolvimento dos mamíferos, indicando que eles não são equivalentes e sugerindo a existência de genes que mostram sua expressão (26). Isso foi mais tarde confirmado em 1991(27, 28, 29), com a identificação de genes expressos apenas a partir o alelo materno ou paterno, em contraste com a maioria dos genes dos mamíferos que são igualmente expressos ou reprimidos de ambos os alelos dos pais.

Humanos expressam durante a gravidez, em todas as membranas fetais o gene de PBEF (30). Aproximadamente 100 genes expressados e agrupados em 25 regiões genômicas foram identificados em camundongos e humanos. Apesar deste pequeno número, muitos genes expressados são importantes no desenvolvimento embrionário e exigem que o nível de expressão seja correto (isto é, uma cópia expressa) para o crescimento e desenvolvimento normais durante a embriogênese (31).

Há expressões gênicas que podem ser encontradas tanto em uma membrana extraembrionária isolada (Tabela 1), quanto em outra simultaneamente (Tabela 2).

## EXPRESSÕES GÊNICAS NAS MEMBRANAS EXTRAEMBRIONÁRIAS EM MURINOS E BOVINOS

No córion e âmnion de embriões bovinos com idade gestacional de 72 dias, os genes *Xist*, *Igf2* e *Gtl2* foram expressos (32), já no saco vitelino de embriões de bovinos há expressão de *VEGF* (33).

Há expressão relativamente forte de prote

ínas morfogenéticas ósseas (BMP) no âmnion e alantoide (BMP4) (34), e âmnion e córion (BMP2) em embriões de murinos com 7,5 dias, onde estão envolvidos no processo de fechamento do canal proamniótico (35). Já no âmnion, isoladamente de murinos (13,5 dias), há expressão de genes tais como *Rasgrf1* e *Atp10a* (36) e o alantoide, também isoladamente (7,5 dias) expressa os genes *Tbx4* e *Tbx5* (37).

Muitos autores têm relatado expressão de aquaporinas (AQPs) na placenta e

membranas fetais de humanos (38), como por exemplo, no âmnion e córion (37 a 40 semanas) a presença de expressão de *AQP1* (39, 40), *AQP3* (41, 40), *AQP8* e *AQP9* e sugeriu que AQPs pode contribuir para a regulação do volume do líquido amniótico.

Em 1995 houve relatos em que no córion e alantoide de embriões murinos com idade entre 9,5 e 10,5 dias (mais precisamente na fusão córionalantoidea) há expressão gênica de *VCAM-1* (42).

## SACO VITELINO

No âmnion e saco vitelino de embriões de murinos com 13,5 dias, simultaneamente, há expressões de genes como *Asb4*, *Gh2*, *H19*, *Igf2r*, *Nesp*, *Phlda2*, *Rtl1*, *Slc22a18*, *Zim1*, *Ampd3*, *Dcn*, *Osbpbl5*, *Ascl2*, *Hprt1*, *Slc22a3*, *Tnfrsf22*, *Tsix*, *Casd1*, *Dhcr7*, *Atp10a*, *Neurabin*, *Htr2a*, *Cobl1*, *Don3*, *Airn*, *Dlk1*, *Impact*, *Kcnq1ot1*, *Nespas*, *Peg3*, *Snrpn*, *Usp29*, *Zac1*, *Ins1*, *Slc38a4*, *Inppsf\_v2*, *Xist* (36); Com 12, 14, 16 e 18 dias *c-fos* e *c-fms* (43); Com 13,5 e 18,5 MTP,  $\alpha$ -TTP, *Apo-B*, TTP e  $\beta$ -actin (44); Com 10 e 15 dias *Phlda2* (45). Já o gene *Tbx3* é expresso no saco vitelino, âmnion e córion simultaneamente (37). *Igf2* é expresso no saco vitelino, âmnion, córion e alantoide de murinos com idade gestacional de 7,5 dias (46).

Genes como *HNF-3 $\alpha$*  e *HNF-3 $\beta$*  são expressos somente no saco vitelino de murinos com idades de 10,5 dias e outros como *HNF-3 $\gamma$* , *HFN-4*, *AFP* e e-globin com idade de 12,5 dias (47); 10 e 13 dias o gene *Pon2*, *Pon3* e *B6* (48); 14,5 dias o gene *Tfp2* (49); 16 dias os genes *Ins1*, *Ins2* e *Igf2* (50, 51); 7,5 e 14,5 dias os genes *H2Afx*, *Sfmbt1*, *Sfmbt2* e *Yy1* (52); 14,5 dias o gene *Gatm* (53); 9,5 dias os genes *lpl*, *Tdag51*, *CD95* e *Thi1* (54); 9, 10 e 11 dias o gene *p185<sup>neu</sup>* (55).

Células endoteliais e hematopoiéticas surgem em associação espaço-temporal em ilhas sanguíneas do saco vitelino aos 7,5 dias e compartilham a expressão de um número de genes, incluindo: *Flk1*, *CD34*, *Scf/tal-1*, *Flt1*, *Gata-2*, *Cbfa2/Runx/AML1* e *Pecam1* (56). Também, tornou-se claro que *EKLF* e *KLF2* desempenham um papel essencial na eritropoiese embrionárias e expressão dos genes aos 14,5 dias de idade gestacional, principalmente na formação de células eritroides no saco vitelino de roedores (57).

Tabela 1 - Genes expressos em uma membrana extraembrionária isoladamente (murinos)

MEMBRANA	GENE	DIA	REFERENCIA
ÂMNION	<i>Rasgrf1</i> e <i>Atp10a</i>	13,5	(36)
SACO VITELINO	<i>HNF-3<math>\alpha</math></i> e <i>HNF-3<math>\beta</math></i>	10,5	(47)
SACO VITELINO	<i>HNF-3<math>\gamma</math></i> , <i>HFN-4</i> , AFP e e-globin	12,5	(47)
SACO VITELINO	Pon2, Pon3 e B6	10 e 13	(48)
SACO VITELINO	<i>Tfpi2</i>	14,5	(49)
SACO VITELINO	Ins1, Ins2 e Igf2	16	(50, 51)
SACO VITELINO	H2Afx, Sfmibt1, Sfmibt2 e Yy1	7,5 e 14,4	(52)
SACO VITELINO	Gatm	14,5	(53)
SACO VITELINO	lpl, Tdag51, CD95 e Thi1	9,5	(54)
SACO VITELINO	<i>p185<sup>neu</sup></i>	9, 10 e 11	(55)
SACO VITELINO	<i>Flk1</i> , <i>CD34</i> , <i>Scl/tal-1</i> , <i>Flt1</i> , <i>Gata-2</i> , <i>Cbfa2/Runx/AML1</i> e <i>Pecam1</i>	7,5	(56)
SACO VITELINO	<i>EKLF</i> e <i>KLF2</i>	14,5	(57)
SACO VITELINO	VEGF e TGF-b	7 e 7,5	(12, 13)
ALANTOIDE	Tbx4 e Tbx5	7,5	(37)

Tabela 2- Genes expressos em mais de uma membrana extraembrionária simultaneamente (murinos)

MEMBRANA	GENES	DIA	REFERÊNCIA
ÂMNIO/ALANTOIDE	<i>BMP4</i>	7,5	(34)
ÂMNIO/CÓRION	<i>BMP2</i>	7,5	(35)
CÓRION/ALANTOIDE	<i>VCAM-1</i>	9,5 e 10,5	(42)
ÂMNION/SACO VITELINO	<i>Asb4, Gh2, H19, Igf2r, Nesp, Phlda2, Rtl1, Slc22a18, Zim1, Ampd3, Dcn, Osbpbl5, Ascl2, Hprt1, Slc22a3, Tnfrsf22, Tsix, Casd1, Dhcr7, Atp10a, Neurabin, Htr2a, Cobl1, Don3, Airn, Dlk1, Impact, Kcnq1ot1, Nespas, Peg3, Snrpn, Usp29, Zac1, Ins1, Slc38a4, Inppsf_v2, Xist</i>	13,5	(36)
ÂMNION/SACO VITELINO	<i>c-fos, c-fms</i>	12, 14, 16, 18	(43)
ÂMNION/SACO VITELINO	<i>MTP, <math>\alpha</math>-TTP, Apo-B, TTP e <math>\beta</math>-actin</i>	13,5 e 18,5	(44)
ÂMNION/SACO VITELINO	<i>Phlda2</i>	10 e 15	(45)
SACO VITELINO/ ÂMNION/ALANTOIDE	<i>Tbx3</i>	7,5	(37)
SACO VITELINO/ ÂMNION/ CÓRION/ ALANTOIDE	<i>Igf2</i>	7,5	(46)

## DISCUSSÃO

Em mamíferos superiores há o desenvolvimento de quatro membranas extraembrionárias (âmnio, córion, alantoide e saco vitelino) (4) e esse fato é tido como comum entre as espécies vivíparas, embora sejam derivadas do zigoto, quase nada contribuem diretamente para a formação do embrião, porém, apenas a parte dorsal do saco vitelino será incorporada e formará o revestimento epitelial do intestino, e o

alantoide estará relacionado com a formação da bexiga e do úraco (58), e outros autores discordam, relatando que o saco vitelino mantém o desenvolvimento primário do feto produzindo um espectro de proteínas séricas (16, 17, 18)

Estudos citam que nos animais domésticos, o saco vitelino inicia sua regressão por volta da segunda ou terceira semana gestacional, à medida que o alantoide se expande para se fundir com o córion, portanto, ativo apenas durante o período embrionário e involui no período fetal (59).

As expressões gênicas podem estar relacionadas intimamente entre as espécies (46), como exemplo *Igf2* é expresso simultaneamente nas quatro membranas extraembrionárias (saco vitelino, âmnio, córion e alantoide) de murinos com idade gestacional de 7,5 dias; já outros estudos (32) relatam que o mesmo gen *Igf2* é expresso somente no córion e âmnion, esse resultado pode também estar relacionado com a idade gestacional da coleta.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na espécie bovina, em determinadas fases de desenvolvimento embrionário, existem fusões de membranas entre si e justaposição de membranas extraembrionárias, como exemplo do saco vitelino com âmnio, saco vitelino com alantoide e saco vitelino com córion, essas justaposições podem ou não levar a certas conexões entre uma membrana e outra. Relatos antigos e recentes mostram um grande número de gens expressos no saco vitelino de murinos, onde o erro ou não expressão de alguns genes nas membranas causa má formação ou o não desenvolvimento do embrião (aborto). Vários estudos e pesquisas estão ainda sendo desenvolvidas sobre essas expressões e suas correlações com desenvolvimento de determinadas estruturas do embrião, onde relatam que existem genes expressos em uma membrana extraembrionária isoladamente ou mais de uma membrana extraembrionária simultaneamente, porém, são expressos em dias diferentes. Existem ainda poucos estudos relacionando as expressões gênicas e as membranas extraembrionárias na espécie bovina, merecendo ainda, uma dedicação maior sobre esse assunto.



**Bruno Machado Bertassoli; Franceliusa Delys de Oliveira; Amilton Cesar dos Santos; Maria Angélica Miglino; Antônio Chaves de Assis Neto**

*Endereço para correspondência: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Universidade de São Paulo – USP, Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, CEP 05508-270, São Paulo – SP, Brasil.  
E-mail: brunobertassoli@usp.br*

*Recebido em 03/02/12*

*Revisado em 07/05/12*

*Aceito em 28/06/12*

## REFERÊNCIAS

- (1) LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental structure: in a comparative aspect. **Exp Clin Endocrinol**, v.102, p.122–34, 1994.
- (2) MOSSMAN, H. W. **Vertebrate Fetal Membranes**, ed. 1, v.1, Rutgers University Press, 1987.
- (3) REIK, W.; WALTER, J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. **Nat Rev Genet**, v.2, p.21-32, 2001.
- (4) OLIVEIRA, M. F.; CARTER, A. M.; BONATELLI, M.; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO M. A. Placentation in the rock cavy, *Kerodon rupestris* (Wied). **Placenta**, v. 27, n.1, p.87-97, 2006.
- (5) DEREN, J. J.; PADYKULA, H. A.; WILSON, T. H. Development os structure and function in the mammalian yolk sac. **Development Biology**, v. 13, 1966.
- (6) HAAR, J. L.; ACKERMAN, G. A. Phase and electron microscopic study of vasculogenesis and erythropoieses in the yolk sac of the mouse. **Anatomic Record**, v. 170, p. 199-224, 1971.
- (7) WOLF, E.; ARNOLD, G.; BAVERSACHS, S.; BEIER, H.; BLUM, H.; EINSPANIER, R.; FROHLICH, T.; HERRLER, A.; HIENDLEDER, S.; KOLLE, S.; PRELLE, K. REICHENBACH, H-D.; STOJKOVIC, M.; WENIGERKIND, H.; SINWATSZ, F. Embryo-maternal communication in Bovine-stagies for deciphering a complex cross-talk. **Reproduction in Domestic Animal**, v.38, p.276-289, 2003.
- (8) MORINI, A. C.; BARBOSA, P. L. G.; MELNIC, R. V.; JUNIOR, J. C. M.; FRANCIOLLI, A. L. R.; MARTINS, D. S.; PEREIRA, T. V, P.; FAVARON, P. O.; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M. A. Caracterização das membranas fetais em búfalas no terço inicial da gestação. **Pesq. Vet. Bras.** V. 28, n. 9, p. 437-445, 2008.
- (9) LIWSKA, J.; GRABINSKI-BARANOWSKI, A. J. Ultrastructure of the secondary yolk-sac in pig's embryo. **Folia Morphology**, v. 53, p. 269-283, 1994.
- (10) NIIMI, G.; USUDA, N.; SHINZATO, M. A light and electron microscopic study of the mouse visceral yolk-sac endodermal cells in the middle and late embryonic periods, showing the possibility of definitive erythropoiesis. **Annals of Anatomy**, v. 184, p. 425-429, 2002.
- (11) GALDOS, A. C. R.; REZENDE, L. C.; PESSOLATO, A. G. T.; MIGLINO, M. A. A relação biológica entre saco vitelino e o embrião. **Enciclopédia biosfera**, Centro científico conhecer – Goiânia, v. 6. n. 11, 2010.
- (12) KREBS, L. T.; XUE, Y.; NORTON, C. R.; SHUTTER, JR.; MAGUIRE, M.; SUNDBERG, J. P.; GALLAHAN, D.; CLOSSON, V.; KITAJEWSKI, J.; CALLAHAN, R.; SMITH, G. H.; STARK, K. L.; GRIDLEY, T. Notch signaling

is essential for vascular morphogenesis in mice. **Genes Dev**, v. 14, p.1343-1352, 2000.

13) COPELAND, J. N.; FENG, Y.; NERADUGOMMA, N. K.; FIELDS, P. E.; VIVIAN, J. L. Notch signaling regulates remodeling and vessel diameter in the extraembryonic yolk sac. **BMC Developmental Biology**, v. 11, n. 12, 2011.

(14) CARLSON, B. M. Patten's Foundations of Embryology. In: TALBOT, N. C.; BLOMBERG, L. A.; MAHMOOD, A.; CAPERNA T.J.; GARRET, W. M. Isolation and characterization of porcine visceral endoderm cell lines derived from in vivo 11-day blastocysts. **In Vitro Cell Development Biology**, v. 43, p. 72 – 86, 2007.

(15) MARRABLE, A. W. The embryonic pig: a chronological account. In: TALBOT, N. C.; BLOMBERG, L. A.; MAHMOOD, A.; CAPERNA T.J.; GARRET, W. M. Isolation and characterization of porcine visceral endoderm cell lines derived from in vivo 11-day blastocysts. **In Vitro Cellular and Developmental Biology. Animal**, v. 43, p. 72 – 86, 2007.

(16) MINUTH, W. W.; TIEDEMANN, K. The pig yolk-sac II. Analysis of synthesized proteins. **Histochemistry**, v. 68, p. 147-158, 1980.

(17) JANZEN, R. G.; MABLY, E. R.; TAMAOKI, T. Synthesis of alpha-fetoprotein by the pre-implantation and post-implantation bovine embryo. **Journal of reproduction and fertility**, v. 65, p. 105-110, 1982.

(18) YOUNG, M. F.; KLEIN, N. W. Synthesis of serum proteins by cultures of chick embryo yolk sac endodermal cells. **Developmental Biology**, v. 100, p. 50-58, 1983.

(19) SHI, W. K.; HOPKINS, B.; THOMPSON, S. Synthesis of apolipoproteins, alphafoetoprotein, albumin, and transferrin by the human foetal yolk-sac and other foetal organs. **Journal of embryology and experimental morphology**, v. 85, p. 191-206, 1985.

(20) SCHLAFER, D. H.; FISHER, P. J.; DAVIES, C. J. The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease, **Animal Reproduction Science** n.60, v.61, p.145–160, 2000.

(21) MANÇANARES, C. A. F. M. **Análise morfológica da área de transição do**

**intestino primitivo para o saco vitelino em embriões e fetos bovinos (24 a 50 dias de gestação)**, 2007, 115p, Tese (doutorado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007

(22) GALDOS, A. C. R. **Análise proteômica do saco vitelino de bovinos**, 2009, 110p, Dissertação (mestrado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009

(23) ASSIS-NETO, A. C.; MORCELI, J. A. B.; FONSECA, R.; AMBROSIO, C. E.; PEREIRA F. T. V.; MIGLINO, M. A. Evolução morfológica dos anexos embrionários e fetais bovinos obtidos por monta natural, com 10 a 70 dias da gestação. **Pesquisa veterinária Brasileira**, v.29, n.10, p.859-862, 2009.

(24) ASSIS NETO, A. C. **Avaliação morfológica da placentação em bovinos de gestações normais e gestações manipuladas em laboratórios**. 2004. 220 p. Exame qualificação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

(25) BECK, F. Comparative Placental Morphology and Function. **Environmental Health Perspectives**, v.18, p.5-12, 1976

(26) HUDSON, Q. J.; KULINSKI, T. M.; HUETTER, S. P.; BARLOW, D. P. Review: Genomic imprinting mechanisms in embryonic and extraembryonic mouse tissues. **Heredity**, v.105, p.45-56, 2010.

(27) BARLOW, D. P.; STOGER, R.; HERRMANN, B. G.; SAITO, K.; SCHWEIFER, N. The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the Tme locus. **Nature**, v.349, p.84–87, 1991.

(28) BARTOLOMEI, M. S.; ZEMEL, S.; TILGHMAN, S. M. Parental imprinting of the mouse H19 gene. **Nature**, v.351, p.153–155, 1991.

(29) DECHIARA, T. M.; ROBERTSON, E. J.; EFSTRATIADIS, A. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. **Cell**, v.64, p.849–859, 1991.

(30) OGNJANOVIC, S.; BAO, S.; YAMAMOTO, S. Y.; GARIBAY-TUPAS, J.; SAMAL, B., BRYANT-GREENWOOD, G. D.

Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes. **Journal of Molecular Endocrinology**, v.26, p.107–117, 2001.

(31) WILLIAMSON, C. M.; TURNER, M. D.; BALL, S. T.; NOTTINGHAM, W. T.; GLENISTER, P.; FRAY, M.; TYMOWSKA-LALANNE, Z.; PLAGGE, A.; POWLES-GLOVER, N.; KELSEY, G.; MACONOCHE, M.; PETERS, J. Identification of an imprinting control region affecting the expression of all transcripts in the GNAS cluster. **Nat Genet**, v.38, p.350–355, 2006.

(32) DINDOT, S. V.; KENT, K. C.; EVERS, B.; LOSKUTOFF, N.; WOMACK, J.; PEIDRAHITA, J. A. Conservation of genomic imprinting at the XIST, IGF2, and GTL2 loci in the bovine. **Mammalian genome**, v.15, p.966-974, 2004.

(33) FATIMA, L. A.; PAPA, P. C. Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF): regulação transcricional e pós-transcricional. **Revista Biologia**, v.4, 2010.

(34) JONES, C. M.; LYONS, K. M.; HOGAN, B. L. M. Involvement of bone morphogenetic protein-4 (BMP-4) and *Vgr-1* in morphogenesis and neurogenesis in the mouse. **Development**, v. 111, p. 531-542, 1991.

(35) ZHANG, H.; BRADLEY, A. Mice deficient for BMP2 are nonviable and have defects in amnion/chorion and cardiac development. **Development**, v. 22, p. 2977-2986, 1996.

(36) KANG, E. R.; LQBAL, K.; TRAN, D. A.; RIVAS, G. E.; SINGH, P.; PFEIFER, G. P.; SZABÓ, P. E. Effects of endocrine disruptors on imprinted gene expression in the mouse embryo. **Epigenetics**, v.6, n.7, p.937-95, 2011.

(37) CHAPMAN, D. L.; GARVEY, N.; HANCOCK, S.; ALEXIOU, M.; AGULNIK, S. I.; GIBSON-BROWN, J. J.; CEBRA-THOMAS, J.; BOLLAG, R. J.; SILVER, L. M.; PAPAIOANNOU, V. E. Expression of the T-box family genes, *Tbx1- Tbx5*, during early mouse development. **Developmental dynamics**, v.206, p.379-390, 1996.

(38) DAMIANO, A. E. Review: Water channel proteins in the human placenta and fetal membranes. **Placenta**, v. 25, p.207-211, 2011.

(39) MANN, S. E.; RICKE, E. A.; YANG, B. A.; VERKMAN, A. S.; TAYLOR, R. N. Expression

and localization of aquaporin 1 and 3 in human fetal membranes. **Am J Obstet Gynecol**, v.187, n.4, p.902-907, 2002.

40) ZHU, X. Q.; JIANG, S. S.; ZHU, X. J.; ZOU, S. W.; WANG, Y. H.; HU, Y. C. Expression of aquaporin 1 and aquaporin 3 in fetal membranes and placenta in human term pregnancies with oligohydramnios. **Placenta**, v.30, p.670-676, 2009.

(41) WANG, S.; AMIDI, F.; BEALL, M.; GUI, L.; ROSS, M. G. Aquaporin 3 expression in human fetal membranes and its up-regulation by cyclic adenosine monophosphate in amnion epithelial cell culture. **J Soc Gynecol Investig**, v.13, p.181-185, 2006.

(42) GURTNER, G. C., DAVIS, V., LI, H. et al. Target disruption of the murine VCAM-1 gene: essential role of VCAM-1 in chorioallantoic fusion and placentation. **Genes Dev**. n.9, p.1-14, 1995.

(43) MULLER, R.; VERMA, I. M.; ADAMSON, D. Expression of *c-onc* genes: *c-fos* transcripts accumulate to high levels during development of mouse placenta, yolk sac and amnion. **The EMBO JOURNAL**, v.2, n.5, p.679-684, 1983.

(44) TERASAWA, Y.; CASES, S. J.; WONG, J. S.; JAMIL, H.; JOTHI, S.; TRABER, M. G.; PACKER, L.; GORDON, D. A.; HAMILTON, R. L.; JR-FARESE, R. V. Apolipoprotein B-related gene expression and ultrastructural characteristics of lipoprotein secretion in mouse yolk sac during embryonic development. **Journal of Lipid Research**, v.40, p.1967-1977, 1999.

(45) TUNSTER, S. J.; TYCKO, B.; JOHN, R. M. The Imprinted *Phlda2* Gene Regulates Extraembryonic Energy Stores. **Molecular and cellular biology**, v.30, n.1, p. 295–306, 2010.

(46) FOWDEN, A. L.; IBLEY, C.; REIK, W.; CONSTANCIA, M. Imprinted genes, placental development and fetal growth. **Hormone Research**, v.65, p.50-58, 2006.

(47) FARRINGTON S. M.; BELAOUSSOFF, M.; BARON, M. H. *Winged-Helix, Hedgehog* and *Bmp* genes are differentially expressed in distinct cell layers of the murine yolk sac. **Mechanisms of Development**, n.62, p.197-211, 1997.

(48) ONO, R.; SHIURA, H.; ABURATANI, H.; KOHDA, T.; KANEKO-ISHINO, T.; ISHINO, F.

Identification of a large novel imprinted gene cluster on mouse proximal chromosome 6. **Genome Research**, v.13, p.1696–1705, 2003.

(49) MONK, D.; WAGSCHAL, A.; ARNAUD, P.; MULLER, P. S.; PARKER-KATIRAEI, L.; BOURC'HIS, D.; SCHERER, S. W.; FEIL, R.; STANIER, P.; MORRE, G. E. Comparative analysis of human chromosome 7q21 and mouse proximal chromosome 6 reveals a placental-specific imprinted gene, TFPI2/Tfpi2, which requires EHMT2 and EED for allelic silencing. **Genome Research**, v.18, p.1270–1281, 2008.

(50) GIDDINGS, S. J.; KING, C. D.; HARMAN, K. W.; FLOOD, J. F.; CARNAGHI, L. R. Allele specific inactivation of insulin 1 and 2, in the mouse yolk sac, indicates imprinting. **Nature Genetics**, v.6, p.310–313, 1994.

(51) DUVILLIE, B.; BUCCHINI, D.; TANG, T.; JAMI, J.; PALDI, A. Imprinting at the mouse *Ins2* locus: evidence for cis- and trans-allelic interactions. **Genomics**, v.47, p.52–57, 1998.

(52) KUZMIN, A.; HAN, Z.; GOLDING, M. C.; MANN, M. R.; LATHAM, K. E.; VARMUZA, S. The PcG gene *Sfmbt2* is paternally expressed in extraembryonic tissues. **Gene Expression Patterns**, v.8, p.107–11, 2008.

(53) SANDELL, L. L.; GUAN, X. J.; INGRAM, R.; TILGHMAN, S. M. *Gatm*, a creatine synthesis enzyme, is imprinted in mouse placenta. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.100, p.4622–4627, 2003.

(54) FRANK, D.; MENDELSON, C. L.; CICCONE, E.; SVENSSON, K.; OHLSSON, R.; TYCKO, B. A novel pleckstrin homology-related gene family defined by *Ipl/Tssc3*, *TDAG51*, and *Tih1*: tissuespecific expression, chromosomal location, and parental imprinting. **Mammalian Genome**, v.10, p.1150–1159, 1999

(55) KNEZEVIC, V.; SPAVENTIV, R.; POLJAK, L.; SLADE, N.; SVAJGER, A.; PAVELIC, K. *p185neu* is expressed in yolk sac during rat postimplantation Development, **J. Anat.** v.185, p.181-187, 1994.

(56) BARON, M. H. Embryonic origins of mammalian hematopoiesis. **Experimental Hematology**, n.31, p.1160–1169, 2003.

57) REDMOND, L. C.; DURMUR, C. I.; ARCHER, K. J.; GRAYSON, D. R.; HAAR, J. L.; LLOYD, J. A. Krüppel-like factor 2 regulated gene expression in mouse embryonic yolk sac erythroid cells. **Bloods cells, molecules and diseases**, v.47, p.1-11, 2011.

(58) GARCIA, S. M. L.; JECKEL NETO, E.; FERNADEZ, C. G. **Embriologia**. 1.ed. Porto Alegre: Artes medicas Sul, 1991. 350 p.

(59) HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7.ed., São Paulo: Manole, 2004. 513p.