

Patrón de glicosilación glandular y vascular de la placenta porcina - Glandular and vascular glycosilation pattern in porcine placenta

Sanchis Gabriela, Cristofolini Andrea, Chanique Analía, Merkis Cecilia.

Area de Microscopía Electrónica, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.

Contacto: gsanchis@ayv.unrc.edu.ar

Resumen

Dada la condición de la placenta porcina de ser epiteliocorial y no invasiva, las circulaciones maternas y fetales se hallan separadas por seis capas de tejidos. De esta manera, el intercambio de nutrientes entre madre y fetos, resulta indispensable para el éxito de la preñez. Los residuos glicoconjugados intervienen en diversos procesos biológicos, sin embargo resta dilucidar su rol en el intercambio materno-fetal placentario. El objetivo fue investigar los residuos glicosilados presentes en glándulas endometriales y vasos sanguíneos de placentas porcinas de diferentes períodos gestacionales. Se utilizaron cerdas mestizas provenientes de frigoríficos de Río Cuarto, Argentina, obteniéndose placentas de: 28 (n=5), 55 (n=5), 60 (n=5), 70 (n=5) y 114 días de preñez (n=5). Para la detección de glicoconjugados, se empleó la técnica lectin-histoquímica con el uso de lectinas comerciales. Residuos de ácido siálico fueron detectados con baja intensidad en vasos sanguíneos y glándulas uterinas. Marcación variable se presentó para los residuos galactosilados, siendo los residuos de β -gal(1,3)galNAc de unión a PNA, los que marcaron más débilmente. Sin embargo, los vasos sanguíneos presentaron mayor marcación que las estructuras glandulares. En cuanto a los residuos de manosa y glucosa, Con-A presentó la mayor marcación en vasos sanguíneos, mientras que VFA marcó más intensamente en glándulas. Los cambios en el patrón de glicosilación del epitelio glandular y vascular placentario estarían relacionados con la remodelación placentaria a lo largo de la gestación. Los residuos sacáridos de las secreciones vasculares y uterinas formarían parte de las sustancias nutritivas aportadas a los embriones/fetos durante la preñez.

Palabras clave: placenta | períodos gestacionales | lectinas | glicoconjugados | porcinos

Abstract

Since porcine placenta is epitheliochorial and non invasive, maternal and fetal blood flows are separated by six tissue layers. Therefore, the interchange of nutrients between mother and fetuses results indispensable for the success of pregnancy. The glycoconjugates participate in several biological processes, nevertheless their involvement in the materno-fetal interchange that takes place in the placenta is still unclear. The objective was to investigate the glycosilated residues of endometrial glands and blood vessels in placentas of different gestational periods. Crossbred swines from slaughterhouses located in Río Cuarto, Argentina, were used. Samples from placentas of: 28 (n=5), 55 (n=5), 60 (n=5), 70 (n=5) and 114 days of pregnancy (n=5) were obtained. Lectin-histochemistry using fluorescein isothiocyanate-conjugated lectins were employed. Sialic acid residues were detected with low intensity in blood vessels and uterine glands. Variable intensity was found for galactosilated residues, with the lowest intensity for β -gal (1,3) galNAc residues of PNA binding. However, blood vessels staining was higher than that of glands. The highest staining for glucose and mannose was found in vessels with Con-A lectin, and in glands with VFA. The present results indicate that changes in the glycosilation pattern of glandular and vascular epithelia are related with placental remodeling along gestation. Moreover, the saccharide residues found in vascular and glandular secretions would be part of the nutritional substances provided to the embryos/fetuses during pregnancy.

Keywords: placenta | gestational periods | lectins | glycoconjugates | porcines

Introducción

La etapa de gestación temprana en cerdos está caracterizada por un rápido desarrollo del útero y los embriones resultando en una placenta difusa, plegada, adecidua, no invasiva y epiteliocorial (Wooding and Burton, 2008). El epitelio uterino y el trofoectodermo entran en contacto, las microvellosidades maternas y fetales se interdigitan y el desarrollo placentario involucra esencialmente un gran aumento en área sin pérdida de estructuras tisulares entre las circulaciones maternas y fetales (Amoroso, 1952; Aplin and Kimber, 2004; Merkis y col, 2005). El resultado es la conformación de una barrera interhemal formada por seis capas de tejidos (Wooding and Burton, 2008). De esta manera, la formación y desarrollo de una amplia red de vasos sanguíneos placentarios resulta de vital importancia, dado que constituyen la principal vía de intercambio de nutrientes y desechos entre la madre y los embriones/fetos.

Durante la gestación numerosas glándulas endometriales se encuentran tapizando el estroma uterino, las cuales secretan activamente a lo largo de la preñez (Bazer and First, 1983). La absorción del contenido glandular,

denominado histiotrofo, por parte del embrión se realiza a través de células especializadas fagocíticas que constituyen las aréolas (Wooding and Burton, 2008). El histiotrofo aporta nutrientes al *conceptus*, hecho esencial en los cerdos, ya que presentan una mayor separación entre los flujos sanguíneos materno y fetal con respecto a especies con placentación invasiva. Además, el histiotrofo juega un rol preponderante en la producción de señales de reconocimiento de la preñez, inmunoprotección, unión, implantación y placentación. A medida que la gestación avanza, las subunidades glandular-areolar se distinguen macroscópicamente de las regiones interareolares, que es por donde ocurre el intercambio gaseoso y la absorción de sustancias hemotrofas por parte del trofoblasto (Johansson *et al.*, 2001). Como resultado, la sustancia que nutre a la descendencia denominada embriotrofo, procede tanto de la sangre materna -el hemotrofo- como de las secreciones glandulares uterinas y fragmentos celulares -histiotrofo- (Wooding and Burton, 2008).

Los residuos sacáridos participan activamente en diversos procesos biológicos, tales como reacciones enzimáticas, como así también durante la diferenciación embrionaria (Gude *et al.*, 2004; Szafranska *et al.*, 2004). Durante el desarrollo de la placenta, la composición estructural de los carbohidratos de las superficies celulares cambia radicalmente, jugando los mismos un importante rol en eventos de reconocimiento y adhesión celular (Gimeno y Barbeito, 2004; Ambrosi *et al.*, 2005). En porcinos, cambios en el tipo y distribución de los residuos glicosilados de las vellosidades placentarias acompañarían los cambios morfológicos del desarrollo placentario (Sanchis y col., 2009).

El glicocáliz placentario ha sido estudiado en diversas especies (Fernández *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2010; Marini *et al.*, 2011), incluso en la cerda (Jones *et al.*, 1995; Jones *et al.*, 1999; Konkurat y col., 2004; Sanchis *et al.*, 2005; Majewska *et al.*, 2006; Sanchis y col., 2009). Por otra parte, numerosas moléculas han sido estudiadas en el microambiente útero-placentario porcino y su implicancia en el intercambio materno-fetal a través de la placenta (Cristofolini y col., 2008; Cristofolini *et al.*, 2009; Sanchis *et al.*, 2010; Sanchis *et al.*, 2011). Sin embargo, resta dilucidar el rol que cumplen los carbohidratos en el intercambio placentario de nutrientes que acontece a través de glándulas endometriales y vasos sanguíneos, particularmente en la placentación no invasiva de la cerda, donde las circulaciones maternas y fetales no entran en contacto.

Las lectinas son proteínas o glicoproteínas que poseen afinidad de unión específica a residuos sacáridos o glicoconjugados (glicoproteínas o glicolípidos) y son usadas extensamente como agentes histoquímicos para investigar la distribución de residuos de azúcar en diversos órganos y tejidos (Sgambati *et al.*, 2002; Gabrielli *et al.*, 2004; Gimeno y Barbeito, 2004; Sgambati *et al.*, 2007; Tatsuzuki *et al.*, 2009), así como también en la detección del patrón de glicosilación de diversas estructuras tisulares, normales o patológicas.

Nuestro objetivo es caracterizar el patrón de glicosilación de glándulas endometriales y vasos sanguíneos placentarios, principales estructuras

tisulares involucradas en el intercambio de sustancias a través de la placenta, por medio de técnica lectinohistoquímica.

Materiales y Métodos

Animales

Todos los procedimientos experimentales empleados fueron aprobados por el Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Nacional de Río Cuarto (CoEdI UNRC).

Se emplearon cerdas mestizas preñadas destinadas a faena y libres de enfermedad de acuerdo al exámen clínico y *post-mortem* realizado, provenientes de frigoríficos y criaderos de la zona de Río Cuarto, Argentina (33,11° S; 64,3° O). Se procesaron 25 tractos reproductivos, se lavaron con solución salina de Hank's (SSH) (Gibco, USA), conteniendo 10.000 U/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomocina y 2,5 µg/ml de fungizona y se mantuvieron a 4°C hasta su procesamiento. Para la toma de muestras placentarias se procedió a la palpación de los embriones/fetos, se realizó un corte del lado anti-mesometrial de los cuernos uterinos y abertura longitudinal de los mismos. Se extrajeron los embriones/fetos de ambos cuernos y se determinó la edad gestacional de los mismos en función de la longitud céfalo-caudal (Marrable, 1971).

Se obtuvieron placentas de los siguientes estadios gestacionales: 28 (n=5), 55 (n=5), 60 (n=5), 70 (n=5) y 114 días de preñez (n=5).

Obtención de cortes histológicos y Análisis de la estructura placentaria

Se tomaron porciones de tejido placentario de ± 6 mm³ y se fijaron con formol salino tamponado. Se deshidrataron con batería de alcoholes de graduación creciente y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes seriados de ± 4 µm con un micrótopo (Microm, USA) y se montaron de a 3-4 cortes sobre cada portaobjeto. Previo al montaje, los cortes fueron pasados por un recipiente con agua destilada a 45°C durante 10 min. Los portaobjetos se colocaron sobre una plancha termostatazada a 40°C durante 15 h y se guardaron toda la noche a 37°C en estufa. Posteriormente, los tejidos se desparafinaron y rehidrataron mediante batería de alcoholes de graduación decreciente. Los cortes de tejido placentario se tiñeron con hematoxilina-eosina y tinción tricrómica de Masson.

Detección de residuos glicosilados por lectinohistoquímica

Se utilizó un panel de 9 lectinas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína (FITC). Las lectinas fluoresceinadas (PHA-E, AIA, PHA-L y MAA: EY Laboratories, USA; PHA-P, PSA, Con- A, PNA y VFA: Sigma, UK -ver en Cuadro 1 sus principales características). Se diluyeron a 1 mg/ml de agua destilada, se fraccionaron de a 100 µl en eppendorf y se mantuvieron a -20°C, envueltas en

papel de aluminio para preservarlas de la luz. La concentración de trabajo elegida fue de 100 µg/ml.

Los portaobjetos se incubaron en cámara húmeda con una gota grande de la lectina conjugada con FITC sobre el tejido y cubriendo los mismos con parafilm "M" (Laboratory film- American National TM). Se dejaron durante 1 h a temperatura ambiente y en oscuridad y se lavaron con PBS de Sørensen bajo las mismas condiciones. Se observaron con un microscopio epifluorescente Axiophot (Carl Zeiss, Alemania) y se adquirieron las imágenes con una cámara Canon Powershot G6 7.1 megapixels (Canon, Japón).

Los resultados de la técnica lectinhistoquímica se expresaron en forma semicuantitativa, determinando que: (+++) fluorescencia cuantiosa, (++) fluorescencia abundante, (+) fluorescencia débil y (-) fluorescencia negativa o ausencia de fluorescencia.

Tabla I: Lectinas empleadas en este estudio.

Grupo	Abreviación	Nombre de la lectina	Especificidad
Acido siálico	MAA	<i>Maackia amurensis</i>	ácido siálico
Galactosa/GaINAc	PHA-L	<i>Phaseolus vulgaris</i> (leucoaglutinina)	Gal, GaINAc oligosacáridos
	PHA-E	<i>Phaseolus vulgaris</i> (eritroaglutinina)	Gal, GaINAc oligosacáridos
	PHA-P	<i>Phaseolus vulgaris</i> (fitohemoaglutinina)	Gal, GaINAc oligosacáridos
	AIA	<i>Artocarpus integrifolia</i>	α-gal
	PNA	<i>Arachis hipogaea</i>	β-Gal (1,3)GaINAc
Manosa/Glucosa	PSA	<i>Pisum sativum</i>	α-man
	Con-A	<i>Concanavalin-A</i>	α-man, α-glc
	VFA	<i>Vicia faba</i>	man, glc

Análisis de datos

Los resultados relacionados a los cambios en la marcación de glicoconjugados de la placenta porcina fueron de tipo descriptivo (Kuehl, 2001).

Resultados

Tabla II: Marcación de lectinas en el endotelio y el contenido de los vasos sanguíneos placentarios a lo largo de la gestación porcina.

GRUPO	LECTINA	VASOS SANGUÍNEOS									
		Endotelio					Contenido				
		28	55	60	70	114	28	55	60	70	114
Acido siálico	MAA	+	+	+	+	-	+++	+++	+	++	+++
Galactosa/ GaNAc	PHA-L	-	++	++	++	+	+++	+++	+++	-	+++
	PHA-E	-	++	++	++	-	+++	++	+++	-	+++
	PHA-P	++	++	+	-	-	-	+++	+++	-	+++
	AIA	+	+	++	++	-	-	++	+++	+++	++
	PNA	-	-	+	-	-	-	-	++	+	+++
Manosa/ Glucosa	PSA	-	+	++	-	-	-	-	++	-	+++
	Con-A	+	+	++	+	++	-	-	+++	-	-
	VFA	+++	++	++	++	ND	-	-	+	+++	ND

ND: no determinado

Vasos sanguíneos

En la tabla II se observa que los residuos de ácido siálico, detectados por la lectina MAA, presentaron baja reactividad en el endotelio y mayor presencia en el contenido vascular (Fig. 1).

En cuanto a la presencia de los residuos galactosilados, la mayor marcación en endotelio se presentó con las lectinas PHA-L, PHA-E, PHA-P (Fig. 2) y AIA (Fig. 3), fundamentalmente entre los 55 y 70 días, mientras que el contenido vascular marcó más intensamente a los 55, 60 y 114 días de gestación.

Con respecto a los residuos de manosa y glucosa, se detectaron en el endotelio de todos los períodos, siendo Con-A (Fig. 4) y VFA (Fig. 5) las lectinas más comúnmente halladas. Los sacáridos α -manosa y α -glucosa se hallaron en el endotelio de todos los estadios seleccionados con intensidad variable, según la detección de Con-A. Sin embargo, el contenido vascular no mostró marcación con ninguna lectina a los días 28 y 55 de preñez.

Tabla III: Marcación de lectinas en el epitelio de las glándulas endometriales e histiotrofo a lo largo de la gestación porcina.

GRUPO	LECTINA	GLÁNDULAS ENDOMETRIALES									
		Epitelio					Histiotrofo				
		28	55	60	70	114	28	55	60	70	114
Acido siálico	MAA	+	ND	+	++	+	-	ND	-	-	-
Galactosa/ GalNAc	PHA-L	+	+	+	+++	+	-	-	-	-	-
	PHA-E	-	+++	++	++	+	+++	+++	-	-	-
	PHA-P	-	+++	++	++	+	-	-	-	++	+
	AIA	+	++	+	++	+	+	-	-	++	-
	PNA	-	ND	+	-	-	-	ND	-	+	+
Manosa/ Glucosa	PSA	+	ND	+	+	-	-	ND	+	-	+
	Con-A	++	ND	++	++	ND	-	ND	+	-	ND
	VFA	++	+	+	++	ND	++	+	+	++	ND

ND: no determinado

Glándulas endometriales

Se observó un epitelio glandular tapizado de glicoconjugados de gran variabilidad, como así también productos secretorios heterogéneos en el lumen de las glándulas endometriales.

El epitelio de las glándulas uterinas presentó residuos de ácido siálico de unión a MAA con baja marcación fluorescente (Fig. 1), mientras que el histiotrofo no mostró marcación en ninguno de los estadios evaluados.

Los oligosacáridos galactosilados presentaron expresión variable según la lectina empleada para su estudio. Coincidente con lo hallado en el endotelio vascular, los residuos galactosilados del epitelio glandular marcaron más intensamente a los 55, 60 y 70 días de gestación (Fig. 2 y 3). En las secreciones uterinas la mayor marcación se observó a los 28 y 55 días, con oligosacáridos de unión a PHA-E, mientras que el día 70 fue el período de mayor presencia en histiotrofo de sacáridos de galactosa. Se destaca la presencia de un puntillado fluorescente sobre diversas estructuras placentarias y en el tejido conectivo endometrial, debido a residuos de β -gal (1,3) galNAc, de unión a PNA (Fig. 6).

Los residuos de manosa y glucosa marcaron positivamente en las células epiteliales glandulares a lo largo de la preñez porcina (Fig. 4 y 5), salvo en

placentas de gestación a término; en tanto que las secreciones glandulares presentaron marcación en todos los estadios, pero más débilmente.

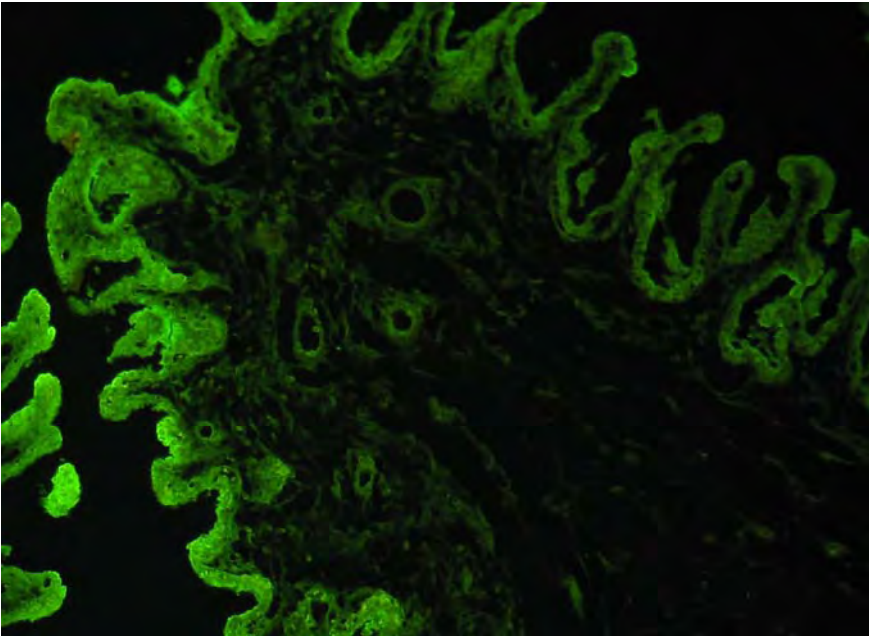


Figura 1: Placenta porcina de 55 días de preñez tratada con MAA. Débil reactividad de los residuos de ácido siálico se observa en el endotelio de los vasos sanguíneos de distinto calibre que se hallan tapizando el endometrio porcino. 100x.

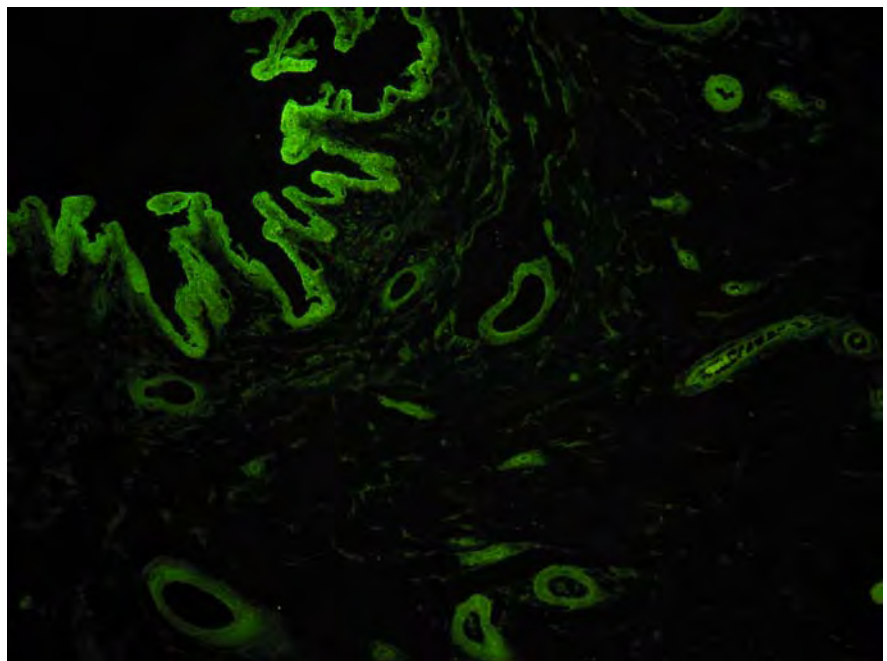


Figura 2: Placenta porcina de 55 días de preñez tratada con PHA-P. Se observa marcación positiva de residuos oligonucleótidos de unión a PHA-P en endotelio y en secreciones vasculares, y en el epitelio e histiotrofo de glándulas endometriales. 100x.

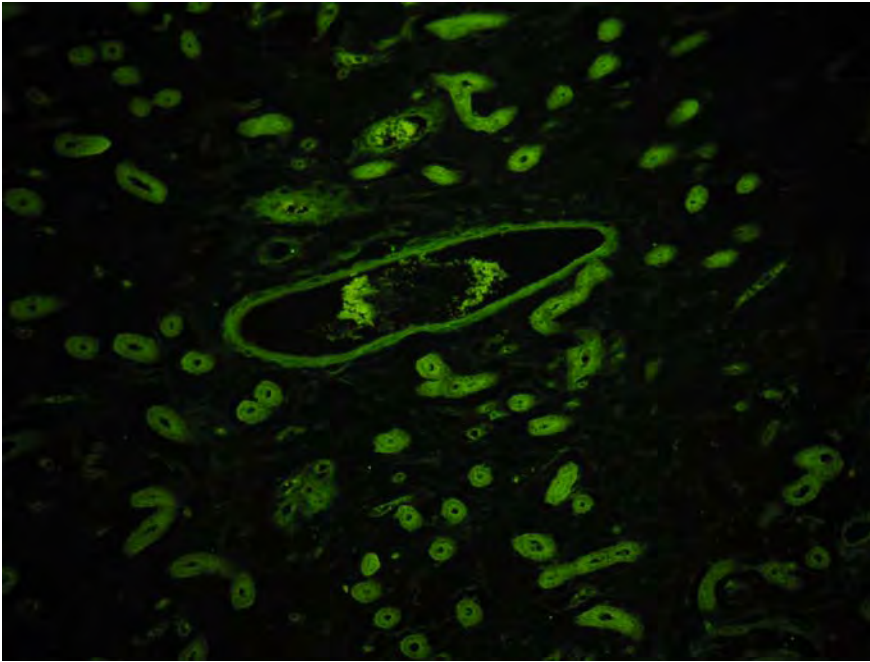


Figura 3: Placenta porcina de 70 días de preñez tratada con AIA. Elevada marcación de residuos α -galactosa se observan en el endotelio de los vasos sanguíneos y en el epitelio de las glándulas endometriales, como así también en las secreciones glandulares y vasculares. 100x.

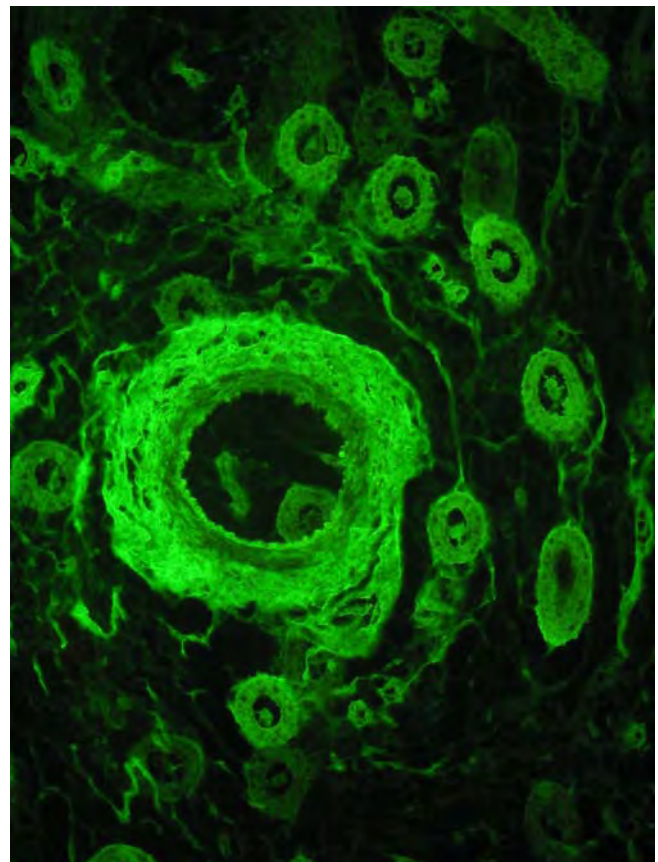


Figura 4: Placenta porcina de 60 días de preñez tratada con Con-A. Abundante expresión de los residuos de α -manosa y α -glucosa se observó en el epitelio de las glándulas endometriales y en el contenido glandular. Se aprecia también cuantiosa fluorescencia en el endotelio y en la capa muscular de una arteriola. 200x.

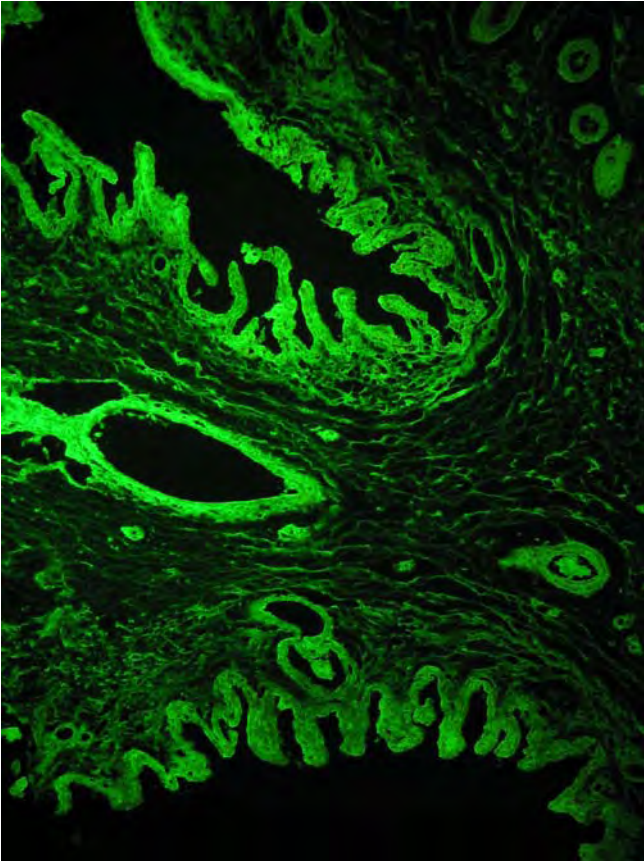


Figura 5: Placenta porcina de 60 días de preñez tratada con VFA. Cuantiosa marcación de residuos manosa y glucosa se observa en el endotelio de los vasos sanguíneos y en las secreciones vasculares, mientras que las glándulas endometriales e histiotrofo presentan fluorescencia abundante. 100x.

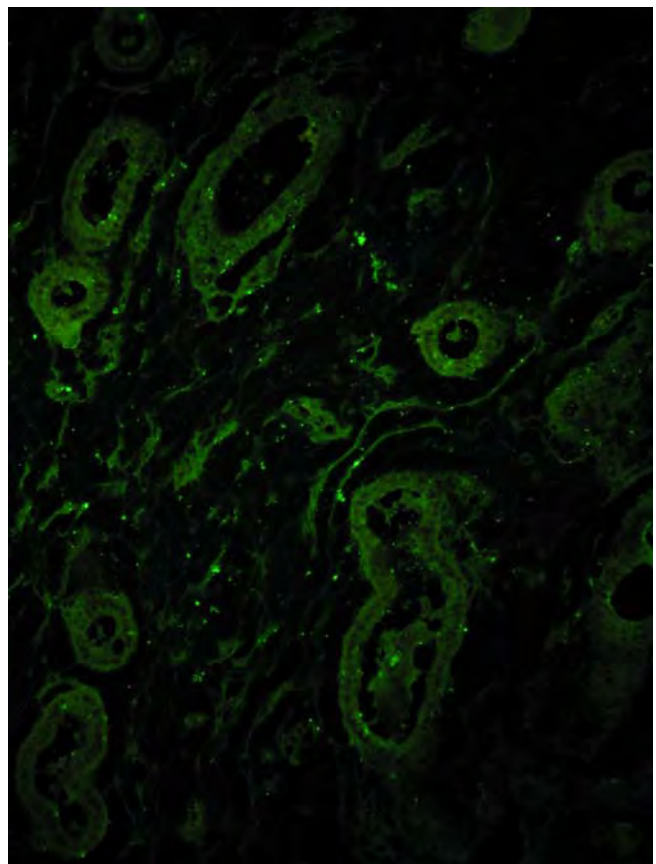


Figura 6: Placenta porcina de 60 días de preñez tratada con PNA. Se observa débil marcación de residuos β -gal (1,3) galNAc en forma de puntillado sobre el epitelio de las glándulas endometriales y en el histiotrofo. 200x.

Discusión

La relevancia de las interacciones y de las conexiones intercelulares durante el desarrollo de la placenta (Aplin and Kimber, 2004) y la participación de residuos azúcares en la comunicación y adhesión celular (Gimeno y Barbeito, 2004), destacan la importancia del estudio del patrón de glicosilación de las principales estructuras de intercambio materno-fetal en cerdos.

Coincidente con lo informado por Jones *et al.* (1999) en equinos, con placentación epiteliochorial, a través de las lectinas MAA y SNA, el ácido siálico mostró baja intensidad de marcación en endotelio y epitelio glandular a lo largo de la preñez porcina. En mujeres, con placentación invasiva, también se detectó fluorescencia debida a ácido siálico de unión a SNA y Mal II en el endotelio vascular (Sgambatti *et al.*, 2007; Tatsuzuki *et al.*, 2009). Por otra parte, lo hallado en el tejido epitelial de glándulas endometriales porcinas concuerda con la inmunorreactividad de MAA en placentas humanas de gestación normal (Jones *et al.*, 2010).

En cuanto a la marcación de residuos galactosilados y de GalNAc, diversas lectinas demostraron la presencia de estos residuos en el endotelio de los vasos sanguíneos placentarios a lo largo de la gestación porcina. En la placenta epiteliochorial de equinos y en la hemocorial humana, los capilares sanguíneos también marcaron con PHA-L, aunque más débilmente que en la cerda (Jones *et al.*, 1999; Tatsuzuki *et al.*, 2009), permitiendo sospechar un rol más estrecho de estos residuos galactosilados en la placentación epiteliochorial porcina. La escasa expresión en el endotelio vascular placentario porcino de los residuos de unión a PNA es coincidente con las reacciones ocasionales y escasas de dicha lectina en placentas humanas de gestación normal avanzada a término (Sgambatti *et al.*, 2002; Sgambatti *et al.*, 2007; Tatsuzuki *et al.*, 2009; Marini *et al.*, 2011). Sin embargo, importantes diferencias se hallaron en el patrón de reactividad de otras lectinas de unión a residuos de Gal/GalNAc, tales como PHA-E y SBA, las que presentaron una marcación nula (Tatsuzuki *et al.*, 2009) y ocasional (Sgambatti *et al.*, 2002; Sgambatti *et al.*, 2007; Marini *et al.*, 2011) respectivamente, en los vasos de placentas humanas.

Por otra parte, se destaca la presencia de residuos galactosilados de unión a PNA en las glándulas endometriales de períodos tardíos de preñez. En este sentido, residuos de β -Gal(1,3)GalNAc han sido informados en la placenta endoteliochorial de la perra, en las células glandulares placentarias próximas al parto (Fernández *et al.*, 2000). Contrariamente, en tejidos placentarios humanos del primer trimestre, la lectina AHA, que comparte especificidad con PNA, se unió fuertemente a secreciones glandulares y al glicocáliz del epitelio glandular (Jones *et al.*, 2010). No obstante, la ausencia de marcación de PHA-L en las secreciones glandulares de placentas porcinas, es coincidente con la detectada en placentas humanas (Jones *et al.*, 2010).

Los presentes estudios muestran que residuos glicosilados de α -manosa y α -glucosa de unión a Con-A estarían presentes en el endotelio de vasos

placentarios a lo largo de la preñez porcina, coincidiendo con lo hallado en placentas humanas de gestación normal (Sgambatti *et al.*, 2002; Sgambatti *et al.*, 2007; Marini *et al.*, 2011). Por su parte, Tatsuzuki *et al.* (2009) también informaron leve expresión de α -manosa en vasos sanguíneos placentarios humanos, a través de un estudio realizado con Con-A y LCA. La marcación de residuos de α -manosa reconocidos por PSA en los vasos sanguíneos placentarios porcinos, concuerda con lo hallado por Jones *et al.* (1999) en los capilares maternos y fetales de placentas equinas.

El epitelio glandular evidenció un glicocálix abundante y heterogéneo. Aunque la mayoría de las lectinas analizadas marcaron la superficie apical del epitelio glandular, se observó una extrema heterogeneidad en la unión de las mismas a células glandulares. La heterogeneidad de unión fue también observada en las secreciones uterinas. Similares observaciones han sido puestas de manifiesto en placentas humanas de gestaciones normales (Jones *et al.*, 2010). Cabe destacar que la intensidad de marcación en glándulas endometriales fue siempre menor a la detectada en los vasos sanguíneos placentarios, tanto en epitelio como en el contenido secretorio de las mencionadas estructuras.

Este es el primer trabajo en abordar el estudio de los residuos glicosilados que se hallan en las glándulas y vasos sanguíneos placentarios, como componente estructural o de sus secreciones. Esto resulta de relevancia dada la implicancia de las mencionadas estructuras en el traspaso de nutrientes entre la madre y los fetos, así como en el crecimiento y desarrollo de la descendencia. En trabajos previos, hemos analizado la localización de diversos residuos sacáridos en las vellosidades que conforman la interfase materno-fetal en porcinos (Sanchis *et al.*, 2005; Sanchis y col., 2009), como así también de otras moléculas, como osteopontina, fibrinógeno y colágeno, involucradas en el mantenimiento de la integridad placentaria y en la adhesión del trofoblasto al epitelio uterino (Cristofolini y col., 2008; Cristofolini *et al.*, 2009; Sanchis *et al.*, 2011).

Se pone en evidencia que diversos residuos sacáridos son secretados y aportados a la descendencia a través del embriotrofo. La excepción la constituyen los residuos de ácido N-acetilneuramínico que son provistos únicamente por nutrición hemotrofa.

Las diferencias en los patrones de marcación de las lectinas en las células epiteliales glandulares y endoteliales muestran variaciones relacionadas a la diferenciación que sufren estas estructuras con el avance de la gestación. Dicha remodelación deriva de los cambios morfo-fisiológicos fundamentales que debe asumir la placenta como órgano transitorio de la preñez. Asimismo, las diferencias observadas en el patrón de glicoconjugados de las secreciones glandulares y vasculares estarían relacionadas con las sustancias nutritivas aportadas a los embriones/fetos en las distintas etapas de la preñez en porcinos.

En conclusión, los azúcares de mayor presencia en endotelio pertenecen al grupo de residuos manosa/glucosa, principalmente de unión a VFA, mientras que en el contenido vascular se hallan fundamentalmente residuos galactosilados de unión a PHA-L. Por su parte, en el tejido glandular placentario porcino e histiotrofo se hallan principalmente azúcares de galactosa, de unión a PHA-P y PHA-E en epitelio y de unión a PHA-E en contenido glandular. Dada la importancia de la nutrición hemotrofa e histiotrofa en el crecimiento y desarrollo saludable de la descendencia, principalmente en animales con placentación epiteliochorial, este trabajo aportará conocimientos para la elaboración de planes nutricionales de cerdas gestantes, tendientes a aumentar la productividad de dicha especie y disminuir las elevadas tasas de pérdida embrionaria por causas inespecíficas.

Agradecimientos

Queremos agradecer a la Sra. Nelcy Schleef por su asistencia técnica y predisposición al trabajo.

Referencias

- Ambrosi, M., Cameron, N., Davis, B. Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode. *Org Biomol Chem*, 2005, vol. 3, p. 1593-1608.
- Amoroso, E. *Placentation*. En: Marshall's Physiology of Reproduction. Editado por Parkes, A.S. 2º ed. London (UK): Longman Green, 1952, Vol. II, Chap. 15, pp. 127-311.
- Aplin, J. and Kimber, S. Trophoblast-uterine interactions at implantation. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004, vol. 2, nº 48.
- Bazer, F. and First, N. 1983. Pregnancy and parturition. En: Wooding P. and Burton G. *Comparative placentation. Structures, functions and evolution*. Editado por Wooding P. and Burton G. Cambridge (UK): Springer-Verlag Berlín Heidelberg, 2008, Cap. 5, pp. 107. ISBN 978-3-540-78796-9.
- Cristofolini, A., Merkis, C., Barroso, F., Vaquer, V., Lloret, M., Moschetti, E., Koncurat, M. Detección de fibrinógeno, FAS B-10, FAS ZB4 y FAS C-20 durante la placentación porcina. *REDVET*, 2008, IX(7): 1-10.
- Cristofolini, A., Merkis, C., Sanchis, G., Chanique, A., Moschetti, E., Campos, M., Taglialegna, A., Alessio, A., Allende, F., Koncurat, M. Localization of collagen through Picrosirius red in porcine placenta. *Biocell*, 2009, vol. 33, nº 3, p. 256.
- Fernández, P., Barbeito, C., Portiansky, E., Gimeno, E. Intermediate filament protein expression and sugar moiety in normal canine placenta. *Histol Histopathol*, 2000, vol. 15, p. 1-6.
- Gabrielli, M., Bondi, A., Materazzi, G., Menghi, G. Differential location and structural specificities of sialic acid- β -D-Gal sequences belonging to

- sialoderivatives of rabbit oviduct under hormonal treatment. *Histol Histopathol*, 2004, vol. 19, p. 1175-1186.
- Gimeno, E. y Barbeito, C. Glicobiología, una nueva dimensión para el estudio de la biología y de la patología. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, 2004, vol. LVIII, n° 58, p. 6-34.
 - Gude, N., Roberts, C., Kalionis, B., King, R. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res*, 2004, vol. 114, p. 397-407.
 - Johansson, S., Dencker, L., Dantzer, V. Immunohistochemical localization of retinoid binding proteins at the materno-fetal interface of the porcine epitheliochorial placenta. *Biol Reprod*, 2001, vol. 64, p. 60-68.
 - Jones, C., Abd-Elnaeim, M., Bevilacqua, E., Oliveira, L., Leiser, R. Comparison of uteroplacental glucosylation in the camel (*Camelus dromedarius*) and alpaca (*Lama pacos*). *Reproduction*, 2002, vol. 123, p. 115-126.
 - Jones, C., Aplin, J., Burton, G. First Trimester Histiotrophe Shows Altered Sialylation Compared with Secretory Phase Glycoconjugates in Human Endometrium. *Placenta*, 2010, vol. 31, p. 576-580.
 - Jones, C., Dantzer, V., Stoddart, R. Changes in glycan distribution within the porcine interhaemal barrier during gestation. *Cell Tissue Res*, 1995, vol. 279, p. 551-564.
 - Jones, C., Wooding, F., Dantzer, V., Leiser, R., Stoddart, R. A lectind binding pattern during development of the equine placenta. *Placenta*, 1999, vol. 20, p. 45-57.
 - Koncurat, M., Merkis, C., Zubeldía, D., Chanique, A., Cristofolini, A., Franchino, M., Abate Cano, L., Sanchis, G., Falco, P., Vivas, A. Detection of glycoconjugates in placental porcine during different stages of pregnancy. *Int J Morphol*, 2004, vol. 22, n° 1, p. 1-16.
 - Kuehl, R. *Diseño de experimentos. Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación*. 2° ed. México. Duxbury/Thomson Learning, 2001. ISBN 978-0-534-36834-0.
 - Majewska, M., Panasiwicz, G., Majewski, M., Szafranska, B. Localization of chorionic Pregnancy-Associated Glycoprotein family in the pig. *Reprod Biol*, 2006, vol. 6, n° 3, p. 205-230.
 - Marini, M., Bonaccini, L., Zappoli, Thyron, G., Vichi, D., Parretti, E., Sgambati, E. Distribution of sugar residues in human placentas from pregnancies complicated by hypertensive disorders. *Acta Histochemica*, Aceptado para publicación.
 - Marrable, A. *The embryonic pig: A chronological account*. London (UK). Ed. Exeter, Pitman Medical, 1971.
 - Merkis, C., Cristofolini, A., Franchino, M., Moschetti, E., Koncurat, M. Relación entre área total y área epitelial de vellosidades placentarias porcinas en diferentes estadios gestacionales. *INVET*, 2005, vol. 7, n° 1, p. 47-54.
 - Sanchis, E., Taglialegna, A., Cristofolini, A., Merkis, C.. Porcine uterine and placental extracellular matrix molecules throughout pregnancy. *Int J Morphol*, Aceptado para publicación.

- Sanchis, G., Cristofolini, A., Merkis, C., Chanique, A., Moschetti, E., Koncurat, M. Preliminary results of osteopontin immunoexpression in porcine placenta. *Anatomia Histologia Embryologia, Journal of Veterinary Medicine*, 2010, vol. 39, p. 87.
- Sanchis, G., Merkis, C., Cristofolini, A., Franchino, M., Zubeldía, D., Koncurat, M. Study of glycoconjugates during porcine placentation. *Biocell*, 2005, vol. 29, n° 2, p. 235.
- Sanchis, G., Merkis, C., Koncurat, M. Detección de glicoconjugados en las vellosidades placentarias porcinas de diferentes períodos gestacionales. *REDVET*, 2009, vol. 10, n° 12, p. 1-12.
- Sgambati, E., Biagiotti, R., Marini, M., Brizzi, E. Lectin histochemistry in the human placenta of pregnancies complicated by intrauterine growth retardation based on absent or reversed diastolic flow. *Placenta*, 2002, vol. 23, p. 503-515.
- Sgambati, E., Marini, M., Vichi, D., Zappoli Thyron, G., Parretti, E., Mello, G., Gheri, G. Distribution of the glycoconjugate oligosaccharides in the human placenta from pregnancies complicated by altered glycaemia: lectin histochemistry. *Histochem Cell Biol*, 2007, vol. 128, p. 263-273.
- Szafranska, B., Majewska, M., Panasiewicz, G. N-glycodiversity of the Pregnancy-Associated Glycoprotein family (PAG) produced in vitro by trophoblast and trophoctoderm explants during implantation, placentation and advanced pregnancy in the pig. *Reproductive Biology*, 2004, vol. 4, n° 1, p. 67-89.
- Tatsuzuki, A., Ezaki, T., Makino, Y., Matsuda, Y., Ohta, H. Characterization of the sugar chain expression of normal term human placental villi using lectin histochemistry combined with immunohistochemistry. *Arch Histol Cytol*, 2009, vol. 72, n° 1, p. 35-49.
- Wooding P. and Burton G. *Comparative placentation. Structures, functions and evolution*. Editado por Wooding P. and Burton G. Cambridge (UK): Springer-Verlag Berlín Heidelberg, 2008. ISBN 978-3-540-78796-9.