

PROGESTERONA, ESTRÓGENOS Y EXPRESIÓN DE INTEGRINAS EN LA GESTACIÓN TEMPRANA PORCINA

Williamson, D M^{1,3}; Yaful, G N²; Riesco, O F¹ y Koncurat, M A¹

¹Cátedra Biología General, Departamento de Ciencias Básicas, ²Cátedra Obstetricia y Fisiopatología de la Reproducción, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116- (6360) General Pico, La Pampa. ³Becaria CONICET.

dmw@vet.unlpam.edu.ar

Resumen

La placenta porcina es epiteliocorial, adecidua, plegada, no invasiva y difusa. Por su ubicación de barrera entre la madre y los embriones es el blanco natural del sistema endócrino y de la expresión de las moléculas de adhesión y sus ligandos tales como las integrinas. El objetivo de éste estudio fue correlacionar la expresión placentaria de las integrinas $\alpha\beta3$, $\beta1$, $\alpha3$ y $\beta3$ con las concentraciones de progesterona y estrógenos presentes en suero y extractos placentarios durante la preñez temprana porcina. Se utilizaron 25 cerdas mestizas que se agruparon en tres períodos: 5 días, pre-implantación; 15-20 días, “ventana de implantación”; 23-49 días post-implantación y 6 cerdas no preñadas. La presencia de integrinas se determinó por inmunoperoxidasa directa e indirecta. La determinación de progesterona (P_4) y estrógenos (E_2) se realizó por Inmunoensayo Enzimático Quimioluminiscente en fase sólida. La expresión de todas las integrinas estudiadas fue mayor en el período de post-implantación (23-49 días de gestación), seguido por el período de peri-implantación (5 días de gestación). Las concentraciones de P_4 sérica (ng/ml) en cerdas vacías fueron inferiores a las de las cerdas gestantes (12.53 ± 7.53 vs. 43.77 ± 6.92 , $P < 0.01$). Las concentraciones de P_4 en extractos placentarios maternos (HoPM) fueron similares en cerdas vacías y gestantes ($P > 0.35$) y entre los distintos períodos de gestación estudiados ($P > 0.13$) y en los extractos placentarios fetales (HoPF) fueron superiores a las de los HoPM (62.16 ± 3.67 vs. 1.97 ± 3.70 , $P < 0.01$). Las concentraciones de E_2 (pg/ml) sérico en cerdas vacías fueron similares a las de las cerdas gestantes (19.36 ± 4.83 vs. 23.15 ± 4.40 , $P > 0.49$),

mientras que en los HoPF fueron superiores a las de los HoPM (3864.26 ± 501.43 vs. 895.42 ± 515.17 , $P < 0.01$). En conclusión, se postula que la expresión de las integrinas estudiadas en el útero durante la gestación temprana porcina acompaña la presencia de los E_2 , secretados principalmente por el componente placentario fetal.

Palabras clave: integrinas, progesterona, estrógenos, placenta, cerdos.

Summary

Progesterone, estrogen and integrins expression in porcine early pregnancy
Porcine placenta is epitheliochorial, adecidua, folded, non-invasive and diffuse. Due to its location as a barrier between mother and embryos, it becomes both the natural target of the endocrine system and the expression of adhesion molecules and their ligands such as integrins. The aim of this study was to correlate placental expression of $\alpha\beta3$, $\beta1$, $\alpha3$ and $\beta3$ integrins with progesterone and estrogen concentrations present in serum and placental extracts during porcine early pregnancy. 25 mixed breed pregnant sows assembled in three periods: 5 d, 15-20 d and 23-49 d and 6 non-pregnant were used. The presence of integrins by direct and indirect immunoperoxidase was fixed. Determination of progesterone (P_4) and estrogens (E_2) by chemiluminescent immunoassay in solid phase was fulfilled. The expression of all the studied integrins was greater in the period of post-implantation (23-49 d of gestation), followed by the period of pre-implantation (5 d of gestation). The concentrations of serum P_4 (ng/ml) in empty sows were lower to those of the pregnant swines (12.53 ± 7.53 vs. 43.77 ± 6.92 ,



$P < 0.01$). The concentrations of P4 in maternal placental extracts (HoPM) were similar in empty and pregnant swines ($P > 0.35$) and among the different periods of gestation studied ($P > 0.13$). Serum E2 concentration (pg/ml) in empty sows were similar to those of pregnant swines (19.36 ± 4.83 vs. 23.15 ± 4.40 , $P > 0.49$). While in HoPF were higher to those of HoPM (3864.26 ± 501.43 vs. 895.42 ± 515.17 , $P < 0.01$). In conclusion, it is postulated that the expression of the integrins studied in the uterus during porcine early pregnancy accompanies the presence of E2, secreted mainly by the fetal placental.

Key Words: integrins, progesterone, estrogens, placenta, pigs.

Introducción

La placenta porcina es epiteliocorial, adecidua, plegada, no invasiva y difusa. Está conformada por interdigitaciones entre las vellosidades del trofoectodermo y el epitelio uterino lo que permite el reconocimiento, adhesión e implantación de los conceptus en ésta especie. Por su ubicación de barrera entre la madre y los embriones es el blanco natural del sistema endócrino y de la expresión de las moléculas de adhesión y sus ligandos tales como las integrinas, Muc-1, fibronectina u osteopontina (Bowen and Hunt 2000; Rashev et al., 2005). En el conejo, la integrina $\alpha v \beta 3$ está presente en el trofoblasto y en el embrión y puede estar involucrada en las interacciones maternas embrionarias tempranas (Illera et al., 2003). En la mujer, se considera a las integrinas como probables marcadores de la receptividad uterina para la implantación del embrión, y que esta acción ocurre cuando el útero se encuentra bajo la influencia de la progesterona (P4) (Carson et al., 2000). Hanashi et al. (2003), demuestran que la integrina $\beta 1$ participa en la fase final de la implantación en la decidua humana. En especies con placenta epiteliocorial, se sugiere que la integrina $\alpha 5 \beta 1$ participa en eventos moleculares involucrados en los procesos de implantación (Rashev et al., 2005). Numerosos trabajos plantean el papel de las

integrinas y de sus ligandos comparando su expresión entre el útero durante el ciclo estral con la preñez temprana porcina (Bowen et al., 1996; Bowen and Hunt 2000; Jaeger et al., 2001; Bridger et al., 2008). Sin embargo, no evalúan su presencia en relación a la concentración de progesterona y estrógenos presentes tanto en suero como en la placenta. La acción de las principales hormonas sexuales secretadas por el ovario, E₂ y P₄, produce una serie de cambios en el endometrio de la cerda gestante que permite la implantación de los embriones, provocando la proliferación y diferenciación de las células endometriales (Rider et al., 1998).

La progesterona, conocida como la hormona de la preñez, prepara al útero para la implantación y el mantenimiento de la preñez, posee un efecto estimulador sobre la secreción de proteínas uterinas, aumenta la actividad de las glándulas secretorias en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio (Mueller et al., 2006) por alterar la permeabilidad iónica de los músculos del miometrio lo que provoca la disminución de la excitabilidad de la célula (Qsuires, 2006).

Los estrógenos desempeñan un papel importante en la proliferación y expansión de la placenta, en el movimiento de agua y electrolitos, en la permeabilidad celular y en la regulación del flujo de sangre uterina. Desde la hipótesis de Bazer y Thatcher (1977), postulando que la secreción de estrógenos realizada por el conceptus porcino constituye parte de las señales necesarias para que se produzca el reconocimiento de los embriones por su madre, numerosos trabajos apoyan la propuesta; así Zieciak, 2002, sostiene que se producen cambios en la relación de PGE₂:PGF₂ α , siendo el estradiol el agente más eficaz del cambio.

El objetivo de éste estudio fue correlacionar la expresión placentaria de las integrinas $\alpha v \beta 3$, $\beta 1$, $\alpha 3$ y $\beta 3$ con las concentraciones de progesterona y estrógenos presentes en suero y extractos placentarios durante la preñez temprana porcina.



Materiales y Métodos

Animales y Tractos Reproductivos: Se utilizaron 25 cerdas mestizas en diferentes períodos gestacionales comprendidos entre los 5 y 49 días de preñez y 6 cerdas no preñadas provenientes de criaderos de la zona norte de la provincia de La Pampa, Argentina. Las cerdas fueron sacrificadas en los períodos de gestación programados. Inmediatamente después de recolectados los tractos reproductivos se lavaron con solución salina de Hank's (SSH) conteniendo 10.000 U/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomina y 2,5 µg/ml de fungizona y se guardaron a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

La gestación temprana se consideró en este trabajo en tres períodos: 5 días que se correspondería con el período de pre-implantación, el 2do período entre 15 a 20 días fin de la "ventana de implantación" y el 3er período de 23 a 49 días como post-implantacional. Las cerdas vacías fueron utilizadas como controles.

En cerdas de gestación controlada de 5 días de preñez los embriones fertilizados se obtuvieron mediante flushing con PBS de los cuernos y fueron contados a través de una lupa Stemi 2000-CS, Carl Zeiss (Alemania). También se tomaron muestras de porciones de endometrio.

Obtención de Suero: A cada cerda se le extrajo sangre por corte de la vena yugular. La sangre se mantuvo a temperatura ambiente hasta lograr retracción del coágulo y exudado del suero. Se la centrifugó a 1800 rpm durante 10 minutos, se fraccionó en alícuotas y conservó a -20°C.

Obtención de Homogenatos de Placenta Porcina (HoPP) y de Útero no Preñado Porcino (HoU): Los extractos placentarios se obtuvieron de la siguiente manera: a \pm 5 g de tejido placentario porcino materno o fetal con tres partes de solución fisiológica se los molió a fin de obtener un macerado. Luego se centrifugó y el sobrenadante se guardó a -20°C, denominándolos Homogenatos de Placenta Porcina Materna (HoPM) y Homogenatos de Placenta Porcina Fetal (HoPF). Los Homogenatos de

útero provenientes de hembras porcinas no preñadas (HoU) fueron procesados de la misma manera (Koncurat et al. (1999).

Procesamiento del tejido placentario: Parte del tejido placentario, tanto materno como fetal, se fijó en formol tamponado con fosfato al 10% y se realizaron los cortes histológicos de \pm 5 µm.

Determinación de Integrinas: Sobre los cortes histológicos se realizó la técnica de inmunohistoquímica indirecta LSAB (Labeled Strpta-vidin Biotin Method): se lavó el tejido con solución salina tamponada (PBS), se agregó peróxido de hidrógeno al 3% (para bloquear la peroxidasa endógena) durante 5', se lavó con PBS y se agregó anticuerpo de ratón anti-subunidad de integrina β 1 humana monoclonal 1:100 (Chemicon) o anticuerpo de conejo anti-integrina α 3 humana policlonal 1:500 (Chemicon) o anticuerpo de conejo anti-integrina β 3 humana policlonal 1:200 (Chemicon); se incubó 20', se lavó nuevamente con PBS. Se agregó el segundo anticuerpo biotilado (inmunoglobulina anti-anticuerpos de conejo, ratón y cabra) incubando 20' y se lavó con PBS. Se colocó gotas de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (streptavidina/HRP de Dako Cytomation) y se incubó 20', se lavó con PBS nuevamente, se cubrió con solución cromógena diaminobencidina (DAB), 15', se lavó con agua destilada y se contrastó con hematoxilina (2'), se lavó con agua, se montó y observó en un microscopio Axiophot (Zeiss). Para la determinación de α V β 3 se utilizó un anticuerpo de ratón anti-integrina α V β 3 humana monoclonal conjugado con biotina (Chemicon), dilución 1:100, que se reveló de igual manera que la técnica descrita anteriormente.

Determinación de hormonas esteroides en extractos placentarios y suero: La determinación de progesterona (P₄) y estrógenos (E₂) se realizó por Inmunoensayo Enzimático Quimoluminiscente en fase sólida en un equipo DPC (Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, CA). Cada unidad de análisis de la hormona respectiva, contiene una bola recubierta de anticuerpos policlonales de conejo anti-

hormona. El anticuerpo anti-hormona se encuentra unido a una perla de poliestireno y encerrado en una copa de reacción denominada Immulite Test Unit®. La muestra compete en la Test Unit® con hormonas marcadas con un “ligando” durante 30 minutos. El material no unido es descartado por lavado centrífugo. En una segunda etapa se agrega un anticuerpo “anti-ligando” marcado con la enzima fosfatasa alcalina. La Test Unit® fue incubada por otros 30 minutos y el material no unido nuevamente descartado por lavado centrífugo. Posteriormente, se agregó un sustrato (éster fosfato de adamantyl dioxietano) cuya hidrólisis genera un compuesto quimioluminiscente (emisión de luz) el que es leído en un fotomultiplicador incorporado en el equipo.

Análisis estadístico: Para realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos de los dosajes hormonales en sueros y extractos placentarios, éstos fueron clasificados en 4 periodos de gestación: no gestantes, a los 5, de 15 a 20, y de 23 a 49 días de gestación. Las concentra-

ciones de P_4 y E_2 fueron analizadas por ANOVA (Di Rienzo et al., 2001).

Los resultados de la determinación de integrinas fueron expresados en forma semicualitativa (Rashev et al., 2005), con una escala elegida en función de la coloración detectada, determinando que:

- (-): negativo
- (+): baja positividad
- (++): positividad intermedia
- (+++): alta positividad

Resultados

Expresión de Integrinas: La expresión de todas las integrinas estudiadas fue mayor en el período de post-implantación (23-49 días de gestación), seguido por el período de peri-implantación (5 días de gestación).

Expresión de la Integrina $\alpha V \beta 3$:

Tabla I: Expresión de la subunidad $\alpha V \beta 3$ de las integrinas en útero vacío y placentas de diferentes períodos gestacionales.

TRACTO REPRODUCTIVO	EPITELIO UTERINO	VELLOSIDADES PLACENTARIAS		GLÁNDULAS UTERINAS	VASOS SANGUÍNEOS	TEJIDO CONECTIVO	
		Fet.	Mat.			Fet.	Mat.
Útero vacío	+			+++	++		++
5 días			++	-	-		++
15-20 días		ND	-	-	++		+
23-49 días		+	++	+	+++		+++

Fet: Fetal; Mat: Materno; ND: No Determinado; +, ++, +++: Diferentes Grados de Positividad.

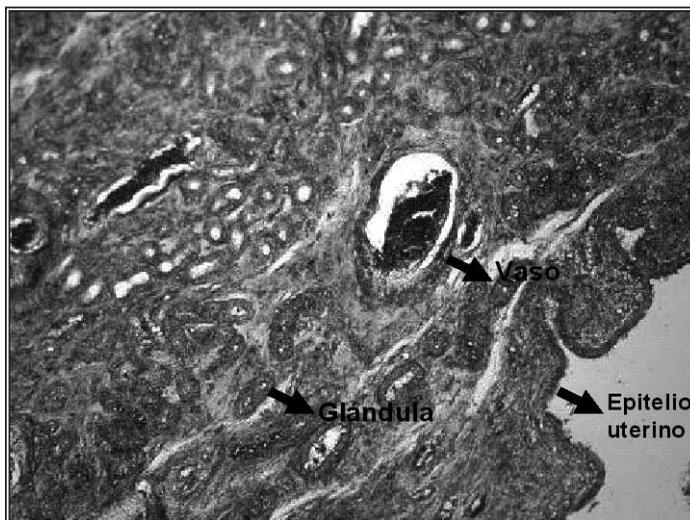


Foto I: Placenta porcina de 20 días de gestación donde se observa la expresión en el tejido conectivo y vasos sanguíneos de la integrina $\alpha V \beta 3$, (20 x).



Expresión de la Subunidad $\beta 1$:

Tabla 2: Expresión de la subunidad $\beta 1$ de las integrinas en útero vacío y placentas de diferentes periodos gestacionales.

TRACTO REPRODUCTIVO	EPITELIO UTERINO	VELLOSIDADES PLACENTARIAS		GLÁNDULAS UTERINAS	VASOS SANGUÍNEOS	TEJIDO CONECTIVO	
		Fet.	Mat.			Fet.	Mat.
Útero vacío	+			+++	++		++
5 días			+++ (apical)	-	-		++
15-20 días		++ (Fil)		-	++		+
23-49 días		++	+++	+	+++		+++

Fet: Fetal; Mat: Materno; ND: No Determinado; +, ++, +++: Diferentes Grados de Positividad.

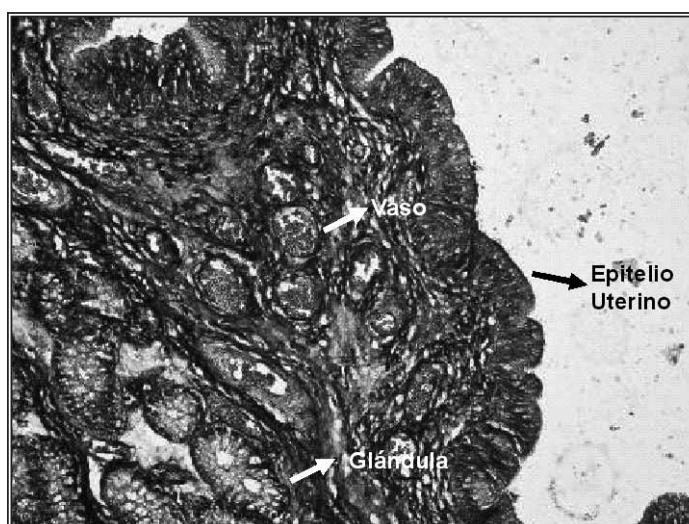


Foto 2: Placenta porcina de 5 días de gestación donde se observa la expresión en el epitelio uterino de la subunidad de las integrinas I, (20 x).

Expresión de la Subunidad de Integrina $\alpha 3$:

Tabla 3: Expresión de la subunidad $\alpha 3$ de las integrinas en útero vacío y placentas de diferentes periodos gestacionales.

TRACTO REPRODUCTIVO	EPITELIO UTERINO	VELLOSIDADES PLACENTARIAS		GLÁNDULAS UTERINAS	VASOS SANGUÍNEOS	TEJIDO CONECTIVO	
		Fet.	Mat.			Fet.	Mat.
Útero vacío	++			-	++		+
5 días			++ (apical)	-	+		++
15-20 días			-	-	-/+		++
23-49 días		++	++	-	++	+	++

Fet: Fetal; Mat: Materno; ND: No Determinado; +, ++, +++: Diferentes Grados de Positividad.

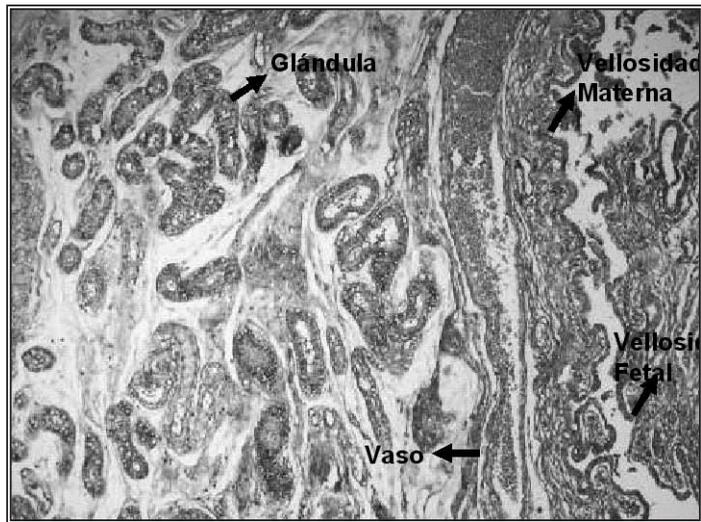


Foto 3: Placenta porcina de 37 días de gestación donde se observa la presencia de la subunidad de las integrinas 3, (20 x).

Expresión de la Subunidad de Integrina b3:

Tabla 4: Expresión de la subunidad b3 de las integrinas en útero vacío y placentas de diferentes periodos gestacionales.

TRACTO REPRODUCTIVO	EPITELIO UTERINO	VELLOSIDADES PLACENTARIAS		GLÁNDULAS UTERINAS	VASOS SANGUÍNEOS	TEJIDO CONECTIVO	
		Fet.	Mat.			Fet.	Mat.
Útero vacío	++			-	ND		
5 días			+ (apical)	-	++		+++
15-20 días		++ (Fil)	-	-	-		+++
23-49 días		+++	+++	++	++	+	++

Fet: Fetal; Mat: Materno; ND: No Determinado; +, ++, +++: Diferentes Grados de Positividad.

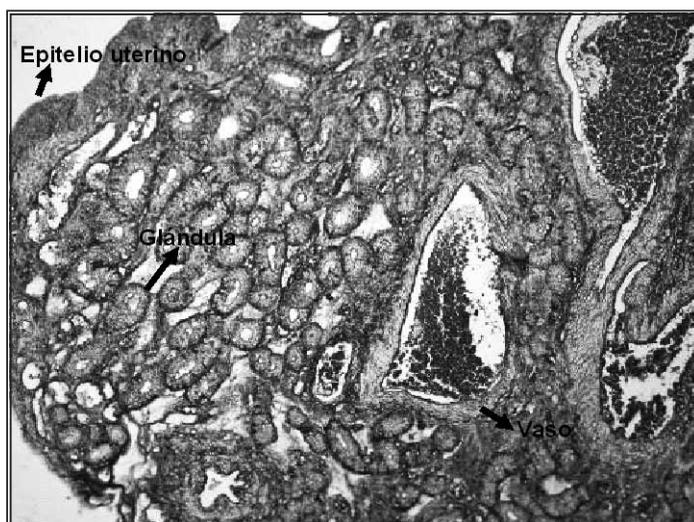


Foto 4: Placenta porcina de 5 días de gestación donde se observa la presencia de la subunidad de las integrinas b3 a nivel apical del epitelio uterino, vasos sanguíneos y tejido conectivo materno, (20x).



La detección de integrinas en útero vacío se encuentra en las Tablas 1, 2, 3 y 4.

Detección de Progesterona: La determinación de P4 se realizó en suero y en extractos placentarios maternos y fetales. Las concentraciones de P4 sérica (ng/ml) en cerdas vacías fueron inferiores a las de las cerdas gestantes (12.53 ± 7.53 vs. 43.77 ± 6.92 , $P < 0.01$). Las cerdas con gestaciones de 5 d tuvieron menores concentraciones de P4 sérica que las cerdas con gestaciones de 15-20 d y de 23-49

d (25.98 ± 6.37 vs. 52.67 ± 7.02 , $P < 0.01$); y las cerdas con gestaciones de 23-49 d tuvieron menores concentraciones de P4 sérica que las cerdas con gestaciones de 15-20 d (34.70 ± 6.88 vs. 70.65 ± 7.53 , $P < 0.01$).

Las concentraciones de P4 en extractos placentarios maternos (HoPM) fueron similares en cerdas vacías y gestantes ($P > 0.35$) y entre los distintos períodos de gestación estudiados ($P > 0.13$).

Por el contrario, las concentraciones de P4 en los HoPF fueron superiores a las de los HoPM (62.16 ± 3.67 vs. 1.97 ± 3.70 , $P < 0.01$) (Figura 1).

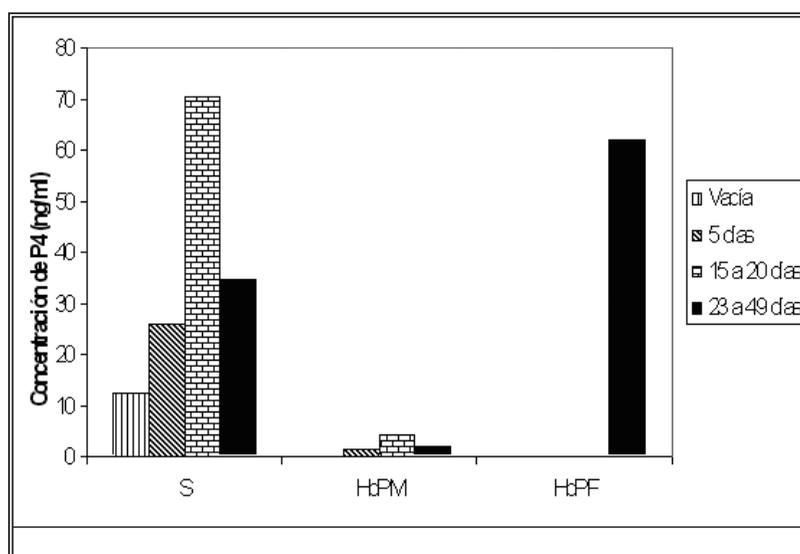


Figura 1. Concentración de P4 en suero, extracto placentario materno (HoPM) y fetal (HoPF) según los tres períodos de gestación temprana y útero (HoUP) de hembras vacías.

Detección de estrógenos.

Las concentraciones de E2 (pg/ml) sérico en cerdas vacías fueron similares a las de las cerdas gestantes (19.36 ± 4.83 vs. 23.15 ± 4.40 , $P > 0.49$). Sin embargo, las cerdas con gestaciones de 5 d tuvieron mayores concentraciones de E2 sérico que las cerdas con gestaciones de 15-20 d y de 23-49 d (34.85 ± 4.08 vs. 17.30 ± 4.60 , $P < 0.01$). También las cerdas con gestaciones de 23-49 d tuvieron mayores concentraciones de E2 sérico que las cerdas con gestaciones de 15-20 d (24.04 ± 4.41 vs. 10.56 ± 4.83 , $P < 0.06$) (Figura 2 y 3).

Las concentraciones de E2 en HoPM (pg/ml) fueron similares en cerdas vacías y gestantes ($P > 0.48$). Por el contrario, los HoPM provenientes de gestaciones de 5 d tuvieron menores concentraciones de E2 que las provenientes de gestaciones de 15-20 d y 23-49 d (276.42 ± 103.38 vs. 712.46 ± 42.78 ; $P < 0.01$), y los de 15-20 d tuvieron menores concentraciones que los 23-49 d (529.50 ± 48.35 vs. 895.42 ± 37.22 ; $P < 0.01$).

Las concentraciones de E2 en los HoPF fueron superiores a las de los HoPM (3864.26 ± 501.43 vs. 895.42 ± 515.17 , $P < 0.01$).

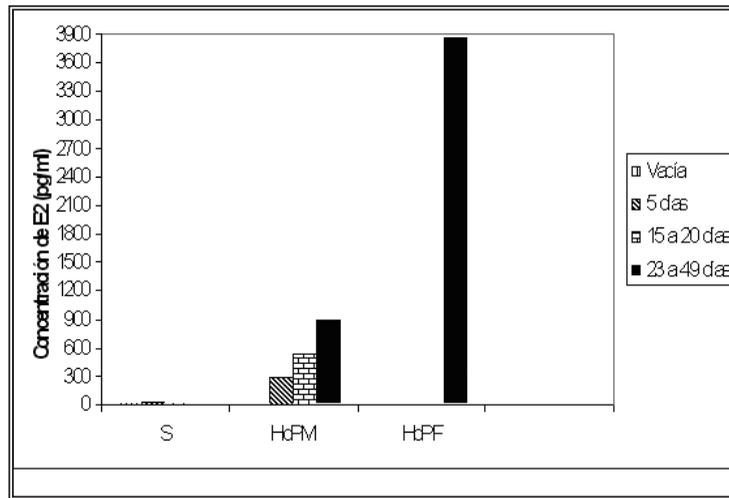


Figura 2. Concentración de E2 en suero, extracto placentario materno (HoPM) y fetal (HoPF) según los tres periodos de gestación temprana y hembras vacías.

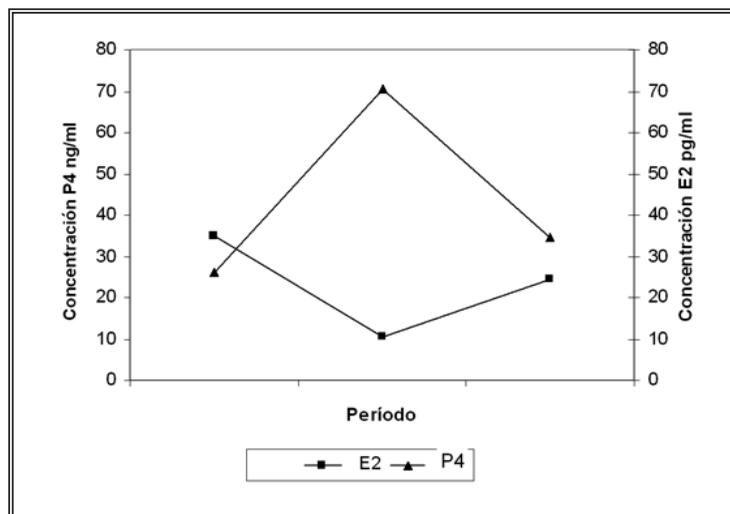


Figura 3. Concentraciones séricas de P4 y E2 durante la gestación temprana porcina

Discusión

Pocos estudios evalúan la expresión de las integrinas y su relación con las hormonas esteroideas a nivel sérico y en la placenta materna o fetal durante la gestación temprana porcina. Bowen et al. (1996), determinaron por inmunofluorescencia indirecta la expresión de las subunidades a1, a3, a4, av, b1 y b3 durante la implantación porcina en el epitelio luminal uterino, sin embargo Keys et al. (1989), demostraron que la placenta porcina presenta la característica de autofluorescer, lo que también comprobamos en nuestro laboratorio, por lo que en el presente trabajo se utiliza una técnica de inmunohistoquímica.

El período de 15-20 días del presente estudio no evidencia presencia de la integrina avb3 ni

de las subunidades b1, a3 y b3 en las vellosidades maternas, siendo un dato que no se correlaciona con los presentados por Lin et al. (2007) y por Rashev et al. (2005).

Por el contrario, encontramos expresión de las subunidades b1 y b3 en la porción placentaria del filamento embrionario durante este período de implantación. En nuestro laboratorio hemos observado la presencia de filamentos insertos en el endometrio junto a embriones ya formados (Foto 5) y consideramos al producto en etapa de filamento como futura pérdida embrionaria, dada la disparidad de desarrollo en relación al embrión, lo que concuerda con los hallazgos de Yaful (2009) y lo informado por Freking et al. (2007).



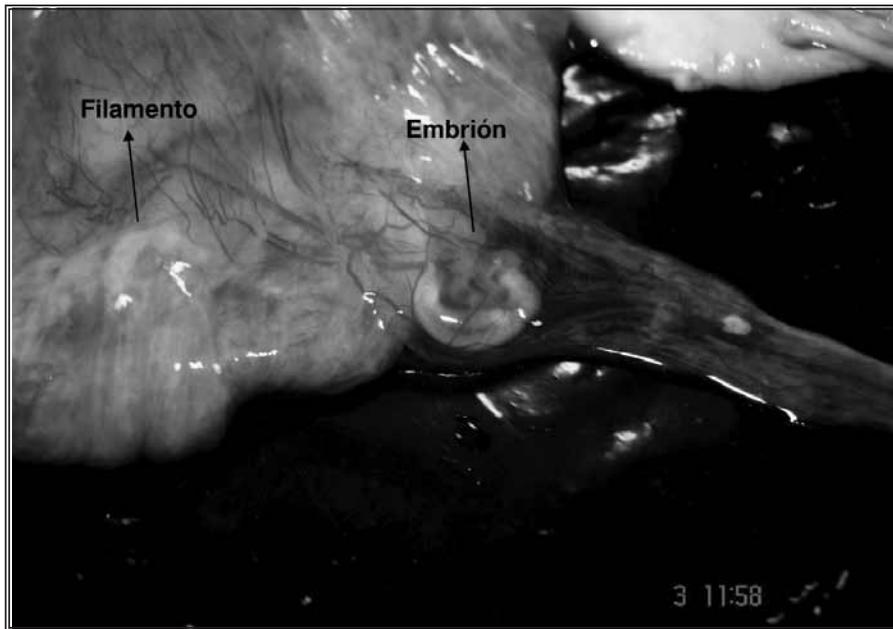


Foto 5: Tracto Reproductor de 17 días donde se observa la presencia de un filamento embrionario y un embrión.

Los patrones de expresión de las integrinas a nivel de las glándulas endometriales indicarían que avb3, b1 y b3 estarían mayormente involucradas en el período postimplantacional, cumpliendo funciones en el mantenimiento de la arquitectura glandular

placentaria. Por el contrario, la subunidad $\alpha 3$ participaría en la construcción de la interfase feto-materna, particularmente en la de tipo interareolar, ya que no se encuentra presente en glándulas uterinas en ningún período estudiado.

También se observa expresión baja e intermedia de las integrinas estudiadas a nivel del epitelio uterino de hembras vacías.

En nuestro laboratorio hemos descubierto altas concentraciones de P4 en los extractos placentarios fetales, hipotetizando que la placenta fetal es una fuente alternativa de producción de P4 durante la preñez porcina (Yáful et al., 2005), fenómeno que no observamos en los extractos placentarios maternos. En suero se registró un pico de P4 durante el período de la “ventana de implantación” que apuntala el rol sistémico de ésta hormona durante la gestación.

Recientemente Franczak y Kotwica (2009) demostraron que el endometrio y miometrio porcino producen E2 en cultivo y ambos

pueden incrementar su producción in vitro si se proporciona P4 al medio. En este trabajo no se realizaron ensayos in Vitro, pero se pudo determinar actividad esteroideogénica en el endometrio uterino desde los 5 días postfertilización.

Se detectaron valores altos de E2 séricos desde los 5 días de preñez en comparación a los hallados en cerdas vacías; valores que descendieron a los 15-20 días

para aumentar nuevamente en el período de 23-49 días y que coinciden con las dos fases estrogénicas consideradas por Spencer y Bazer (2004). En acuerdo con lo hallado por Franczak y Kotwica (2008) se determinaron concentraciones altas de E2 en los extractos placentarios maternos, pero fueron menores a los detectados en extractos fetales, de manera tal que se puede afirmar que la secreción estrogénica es debida principalmente al componente placentario de origen fetal. Se postula que durante la gestación temprana es determinante la relación temporal entre las concentraciones séricas de E2 y P4, y que el descenso de E2 hallado entre los 15-20 días de preñez, que se acompaña de un aumento de P4, sería importante para la implantación de los productos y la continuidad de la gestación.

Todas las integrinas estudiadas aumentan su

expresión a los 5 días de gestación en el endometrio gestante. Esto supone que la remodelación celular necesaria para el establecimiento y continuidad de la preñez porcina podría deberse a la influencia de los E2, ya que se observó que los picos de E2 sérico se correlacionan con la presencia de las integrinas, tanto en el período de pre-implantación como en el de post-implantación. En conclusión, se postula que la expresión de las integrinas estudiadas en el útero durante la gestación temprana porcina acompaña la presencia de los E2, secretados principalmente por el componente placentario fetal.



Bibliografía

- Bowen, J.A.; Bazer, F.W. and Burghardt, R.C. 1996.** Spatial and temporal analyses of integrin and muc-1 expression in porcine uterine epithelium and trophoectoderm in vivo. *Biology of Reproduction*, 55: 1098-1106.
- Bowen, J.A. and Hunt, J.S. 2000.** The role of Integrins in Reproduction. *Pro Soc Exp Biol Med*. 223: 331-343.
- Bridger, P.; Haupt, S.; Leiser, R.; Johnson, G.; Burghardt, R.; Tinneberg, H. and Pfarrrer, C. 2008.** Integrin activation in bovine placentomes and in caruncular epithelial cells isolated from pregnant cows. *Biology of Reproduction*, 79: 274-282.
- Carson, D.D.; Bagchi, I.; Dey, S.K.; Enders, A.C.; Fazlabas, A.T.; Lessey, B.A. and Yoshinaga, K. 2000.** Embryo implantation. *Developmental Biology*, 223: 217-237.
- Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Gonzalez, L.; Tablada, E.; Diaz, M.; Robledo, C. y Balzarini, M. 2001.** Estadística para las Ciencias Agropecuarias. 4ta. Ed. Triunfar. Córdoba. Argentina.
- Foxcroft, G.R.; Dixon, B.K.; Treacy, B.K.; Jiang, L.; Novak, S.; Mao, J. and Almeida, F.C.L. 2000.** Insights into conceptus-reproductive tract interactions in the pig. *Journal of Animal Science*, 77: 1-15.
- Franczak, A. and Kotwica, G. 2008.** Secretion of estradiol-17 β by porcine endometrium and myometrium during early pregnancy and luteolysis. *Theriogenology* 69: 283-289.
- Freking, B.A.; Leymaster, K.A.; Vallet, J.L. and Christenson R.K. 2007.** Number of fetuses and conceptus growth throughout gestation in lines of pigs selected for ovulation rate or uterine capacity. *Journal Animal Sciences*, 85: 2093-2103.
- Hanashi, H.; Shiokawa, S.; Akimoto, Y.; Sakai, K.; Suzuki, N.; Kabir-Salmani, M.; Nagamatsu, S.; Iwashita, M.; Nakamura, Y. 2003.** Physiologic Role of Decidual beta1 Integrin and Focal Adhesion Kinase in Embryonic Implantation. *Endocrinology Journal*, 50 (2): 189-98.
- Illera, M.; Lorenzo, P. L.; Gui, Y.; Beyler, S.; Apparao, K.; Lessey, B. 2003.** A Role for α v β 3 Integrin During Implantation in the Rabbit Model. *Bio-logy of Reproduction*, 68: 766-771.
- Jaeger, L.A.; Johnson, G.A.; Ka, H.; Garlow, J.G.; Burghardt, R.C.; Spencer, T.E. and Bazer, F.W. 2001.** Functional analysis of autocrine and paracrine signaling at the uterine-conceptus interface in pigs. *Reproduction Suppl.*, 58: 191-207.
- Keys, J.L.; King, G.J. and Laforest J.P. 1989.** Autofluorescence of the Porcine Endometrium during Early Pregnancy. *Biology of Reproduction*, 40: 220-222.
- Koncurat, M.; Greco, C. and Vivas, A. 1999.** Hallazgo del factor precoz de preñez (EPF) en extractos placentarios porcinos. *Revista Brasileira de Reproducción Animal*, 3: 193-195.
- Lessey, B.A.; Arnold, J.T. 1998.** Paracrine Signaling in the Endometrium: Integrins and the Establishment of Uterine Receptivity. *Journal of Reproduction Immunology*, 39 (1-2): 105-16.
- Li, Q.; Yan-Ling, W.; Su-Xia, B.; Shao-Hui, J.; Wei, Q.; Shuang, T. and Yun-Shang, P. 2003.** Temporal and spatial expression of integrins and their extracellular matrix ligands at the maternal-fetal interface in the rhesus monkey during pregnancy. *Biology of Reproduction*, 69: 563-571
- Lin, H.; Wang, X.; Liu, G.; Fu, J. and Wang, A. 2007.** Expression of alphaV and beta3 integrin subunits during implantation in pig. *Molecular Reproduction of Development*, 74(11): 1379-1385.
- Qsuires, E. J. 2006.** *Endocrinología Animal Aplicada*. Editorial Acribia S.A.
- Rashev, P.; Georgieva, R. and Rees, D. 2005.** Expression of α 5 β 1 Integrin and Fibronectin during Early Pregnancy in Pigs. *Folia Biologica*, 51: 121-125.
- Rider, V.; Kimler, B.F. and Justice, W.M. 1998.** Progesterone-growth factor interactions in uterine stromal cells. *Biology of Reproduction*, 59: 464-469.
- Spencer, T.E. and Bazer, F.W. 2004.** Uterine and placental regulating conceptuses growth in domestic animals. *Journal of Animal Sciences*, 82 (E. Suppl.): 4-13.
- Yaful, G.; Riesco, O. y Koncurat, M. 2005.** Concentración de progesterona en placenta materna, fetal y líquido amniótico durante la gestación porcina. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*, 13: 136-137.
- Yaful, G. 2009.** Estudio de la placenta porcina: Concentración de hormonas esteroides y parámetros de eficiencia reproductiva. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, 1-73.

