

Análisis del área inmunomarcada y densidad óptica de la galectina-1 en placenta porcina. Resultados preliminares.

Vélez, C.^{1,2}; Williamson, D.¹; Clauzure, M.^{1,2}; Barbeito, C.^{2,3}; García, M.¹; Gastaldo, M.¹; Giai, R.¹; Ramos, S.¹; Koncurat, M.⁴; Cánovas, L.¹; Buey, V.¹; Rayer, A.¹; Lacolla, D.¹; Sierra, G.¹; Moiraghi, L.¹; Etcheverry, B.¹; Devaux Antonini, L.¹; Benitez, V.¹; Roth, N.¹; Marrón, Y.¹; Sucurro, A.¹; Sánchez, F.³. y Fernández, L.¹

¹Centro de Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, General Pico, La Pampa, Argentina.

²Centro de Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Veterinarias, CONICET, Universidad Nacional de La Pampa, General Pico, La Pampa, Argentina.

³Investigador externo, General Pico, La Pampa, Argentina.

⁴Asesor de Investigación externo, General Pico, La Pampa, Argentina.

cvelez@vet.unlpam.edu.ar

RESUMEN

Frente la realidad de que las pérdidas en la gestación porcina se producen en la preñez temprana, el análisis de las moléculas que determinan una buena implantación y posterior gestación es indiscutible. Las galectinas, proteínas glicosiladas, podrían ser claves en la regulación del sistema inmune materno, como así también de la apoptosis, la angiogénesis, la migración, la invasión y la adhesión celular en las placentas. El objetivo fue determinar el área inmunomarcada y la densidad óptica de la galectina 1 (Gal-1) en endometrio de hembras no gestantes y en los componentes materno-fetales de placentas porcinas de 15-17 días de gestación (dg), siendo este último periodo, clave para analizar los eventos moleculares que se presentan y permiten una correcta implantación. Se determinó por inmunohistoquímica indirecta sobre cortes desparafinados con un anticuerpo comercial específico de especie. Todas las muestras histológicas fueron observadas y analizadas cualitativamente según la intensidad de tinción. Luego se tomaron imágenes de los resultados de la inmunohistoquímica y se realizó el análisis cuantitativo de las mismas. Para las microfotografías se utilizó un microscopio óptico Leica DM500 (Alemania) con una cámara de alta definición Leica ICC50 W incorporada al microscopio y se procesaron en formato JPG. Todas las fotografías fueron realizadas con el objetivo de 10X a modo de obtener imágenes panorámicas, y luego para el análisis cuantitativo, se realizaron tomas a 40X. Se utilizó la técnica de cuantificación de imágenes utilizando el software ImageJ. A fin de analizar la interfase feto-materna, de cada preparado se tomaron imágenes del epitelio luminal endometrial (componente materno) y del trofoblasto (componente fetal) de las muestras de 17 dg. Además, a modo de control, se obtuvieron imágenes del epitelio luminal del útero no gestante. Los resultados se expresaron de un modo cuantitativo determinando sobre la interfase placentaria (epitelio luminal endometrial y trofoblasto),



el porcentaje de área inmunomarcada (%AIM) y la densidad óptica (DO) de la Gal-1. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza y el test de Tukey ($p < 0,05$), indicando que no hubo diferencias significativas en el %AIM entre los componentes maternos y fetales, pero sí la hubo en la DO, por lo que resulta necesario seguir analizando la presencia y concentración de estas proteínas en la placentación porcina.

Palabras clave: galectina-1, placenta, gestación, porcinos.

Analysis of the immunolabeled area and optical density of galectin-1 in porcine placenta. Preliminary results.

ABSTRACT

Faced with the reality that losses in swine gestation occur in early pregnancy, the analysis of the molecules that determine good implantation and subsequent gestation is indisputable. Galectins, glycosylated proteins, could be key in the regulation of the maternal immune system, as well as apoptosis, angiogenesis, migration, invasion, and cell adhesion in placentas. The objective was to determine the immunolabeled area and the optical density of galectin 1 (Gal-1) in the endometrium of non-pregnant females and in the maternal-fetal components of porcine placentas of 15-17 days of gestation (dg), the latter period being key to analyze the molecular events that occur and allow correct implantation. Gal-1 was determined by indirect immunohistochemistry on deparaffinized sections with a species-specific commercial antibody. All histological samples were observed and qualitatively analyzed according to staining intensity. Images of the immunohistochemistry results were taken, and quantitative analysis was performed. For the microphotographs, a Leica DM500 optical microscope (Germany) was used with a Leica ICC50 W high-definition camera incorporated into the microscope and they were processed in JPG format. All photographs were taken with the 10X objective to obtain panoramic images, and then for quantitative analysis, shots were taken at 40X. The image quantification technique was used using ImageJ software. In order to analyze the feto-maternal interface, images of the endometrial luminal epithelium (maternal component) and the trophoblast (fetal component) of the 17 dg samples were taken from each preparation. In addition, as a control, images of the luminal epithelium of the non-pregnant uterus were obtained. The results were expressed quantitatively by determining the percentage of immunolabeled area (%AIM) and the optical density (OD) of Gal-1 at the placental interface (endometrial luminal epithelium and trophoblast). The results were examined by analysis of variance and Tukey's test ($p < 0.05$), indicating that there were no significant differences in %AIM between the maternal and fetal components, but there were significant differences in the OD, so it is necessary to continue analyzing the presence and concentration of these proteins in the porcine placentation.

Keywords: galectin-1, placenta, gestation, swine.

