

## ULTRAESTRUCTURA PLACENTARIA PORCINA EN DIFERENTES PERÍODOS GESTACIONALES

Koncurat, M.A.<sup>1</sup>, Magliano, C.<sup>2</sup>, de Vargas, V.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> *Area de Microscopía Electrónica, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Enlace Ruta 8 y 36, km 601. 5800 Río Cuarto. Argentina.*

*Te/Fax: 54.358.4676165. mkoncurat@ayv.unrc.edu.ar*

<sup>2</sup> *Becarias, Ayudantías de Investigación del Area de Microscopía Electrónica.*

### RESUMEN

Ocho placentas de cerdas mestizas: 3 del comienzo de la gestación, 28 días; 2 del segundo tercio de la gestación, 69 días, y 3 a término, 112 días, fueron observadas por microscopía óptica y microscopía electrónica de transmisión. La placenta porcina, órgano clave para el éxito de la preñez, se caracteriza por ser difusa y epiteliocorial. En la interfase feto placentaria de placentas de 28 días de gestación se observa la aposición del trofoblasto fetal con el epitelio del endometrio uterino en donde se distinguen los espacios entre dichas células y que constituirían la base de la alimentación histiotrófica en este período gestacional. Se observa en el citoplasma de las células epiteliales maternas la presencia de numerosos gránulos electrodensos conectados por finos túbulos. A los 69 días de gestación las células epiteliales muestran gran actividad celular dado el número de nucléolos que se observa por célula y que indican división celular. La interfase de placentas de 69 días de gestación presenta más desarrollada la interdigitación de las microvellosidades y más dilatados los espacios relacionados con la nutrición histiotrófica. La placenta a término presenta células trofoblásticas en donde se observa gran secreción de proteínas y procesos característicos de apoptosis. El conocimiento de la arquitectura y desarrollo placentario de las zonas placentarias, a través de los diferentes períodos gestacionales, permitirá profundizar la comprensión de los fenómenos inmunoendócrinos que sustentan la gestación porcina. Para ello, en este trabajo se compara la ultraestructura de placentas porcinas provenientes de diferentes períodos gestacionales.

**Palabras clave:** placenta, porcino, gestación.

### Ultrastructure of the Pig Placenta at the Different Periods of Gestation

#### SUMMARY

Placenta for eight sows, 3 in early pregnancy (28 days), 2 in the middle third of gestation (69 days) and 3 at term pregnancy (112 days) were examined by optic microscopy and transmission electron microscopy. The swine placenta, key organ for the success of the pregnancy, is characterised to be diffuse and epitheliochorial. In uterine luminal endometrium attachment of trophoblast fetal with maternal epithelium were observed. In this maternofetal interface of placenta the 28 days pregnancy the spaces between cell and cell were observed; these spaces could be central form of alimentation histiotrophe in this gestational period. The uterine cells contain electron-dense granules connected by narrow cisterns. At the 69-day stage of gestation the epithelial cells have more cell activity because they have nucleolo for cell and this is characteristic of cell division. The maternofetal interface of the placenta at the 69-day stage of gestation is more developed that maternofetal interface at the 28 days of gestation. Placenta at term show trofoblastic cells where it was observed many secretion of proteins and process characteristics of the apoptosis. The knowledge of the architecture and development of the placental areas through the different gestational periods, will

allow to understand the immunoendocrine phenomenon that sustains the swine gestation. In this work, ultrastructural placental morphology from different periods of gestation was compared.

**Key words:** placenta – swine - gestation

## INTRODUCCIÓN

Las evidencias epidemiológicas sugieren que el tamaño del lechón recién nacido influye sobre su posterior estado de salud durante el resto de su vida. Asimismo, se sabe que el crecimiento fetal puede ser perjudicado por un medio ambiente materno subóptimo, ya sea sistémico o local, particularmente el uterino (Kaufmann y Burton, 1994; Clark, 1991). Además, en cerdos, en los primeros 35 días, las pérdidas prenatales se presentan con una frecuencia de 25-35% (Simmen y Simmen, 1990; Rider et al., 1998; Vivas et al., 1998). Estas pérdidas se deben principalmente a fallas en las señales del embrión dirigidas a la madre con fines de establecer inmunotolerancia, fenómeno imprescindible para la sobrevivencia del embrión y que se realiza a través de la placenta, único nexo entre la madre y los embriones (Clark, 1999; Robertson, 2000).

La placenta de los mamíferos euterianos es una estructura que se forma por la aposición de membranas fetales y tejidos maternos (Amoroso, 1952). Su principal función consiste en regular el intercambio fisiológico entre el feto y la madre, actuando como importante órgano immunoendócrino durante la gestación. Los tejidos placentarios, en especial los de origen fetal extraembrionarios, establecen una barrera para evitar la mezcla de la sangre fetal y materna (Björkman, 1965; Björkman, 1973; Dantzer, 1985; Enders y Blankenship, 1999).

Dado el tipo de placenta porcina, difusa, no invasiva y epiteliocorial (Dantzer, 1981; Leiser y Kaufmann, 1994; Winther et al., 1999; Koncurat y Vivas, 2000), pensamos que las citoquinas producidas por el trofoblasto embrionario y el endometrio gestante actuarían en conjunto con las hormonas maternas circulantes y los estrógenos secretados por el *conceptus*, gobernando las variaciones de la estructura placentaria durante la implantación y el desarrollo de la preñez (Geisert y Yelich, 1997). Una mejor comprensión de la estructura y ultraestructura placentaria porcina en diferentes períodos gestacionales permitirá aportar conocimientos morfofisiológicos sobre el desarrollo placentario y entender algunos de los mecanismos que controlan el crecimiento fetal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

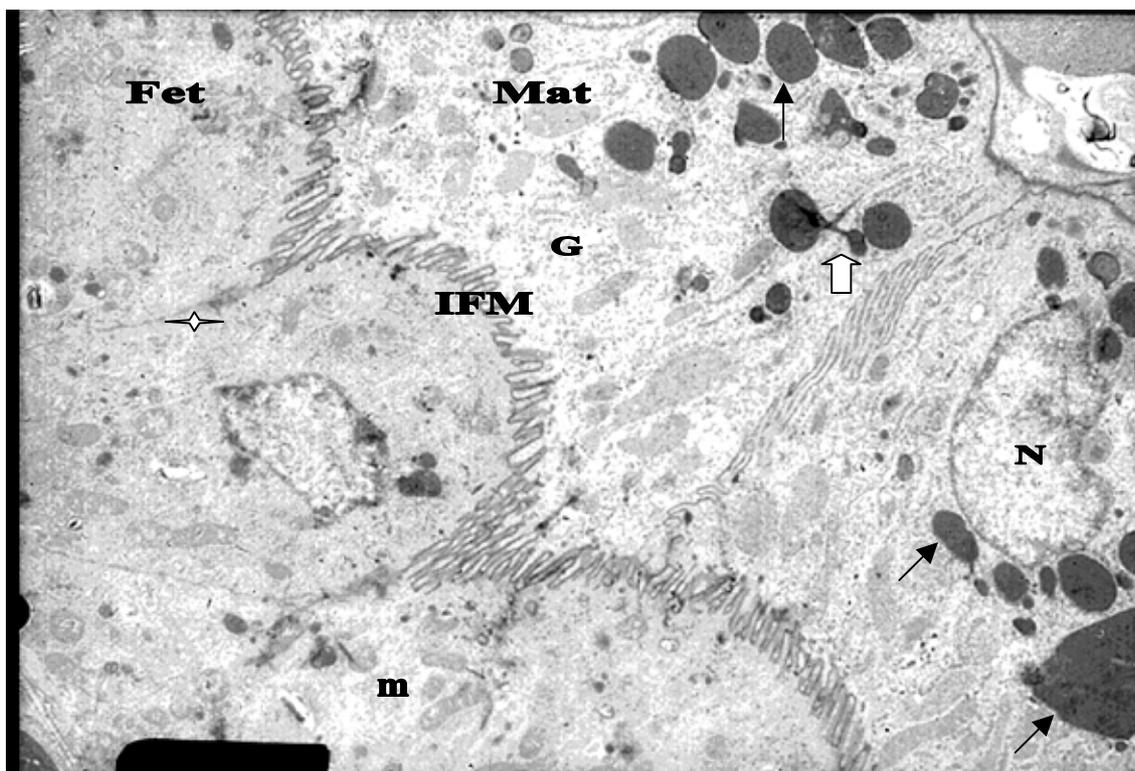
Se procesaron 8 placentas provenientes de cerdas mestizas: 3 placentas de 28 días, 2 de 69 días de gestación controlada y 3 placentas a término (112 días), cedidas por el Inta Marcos Juárez, Provincia de Córdoba. No se encontraron anomalías placentarias en el examen de rutina clínico y postmortem realizado.

*Microscopía óptica:* las muestras se fijaron con formol al 10% tamponado con fosfato, se incluyeron en parafina y se colorearon con Hematoxilina Eosina.

*Microscopía electrónica:* las muestras de tejido placentario se fijaron con glutaraldehído al 2,5% en tampón S-collidine durante 3 h, se refijaron 1 h con tetróxido de osmio, se deshidrataron con soluciones crecientes de acetona (Merck) y se incluyeron en Embed 812. Los cortes ultrafinos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se examinaron con un microscopio electrónico EM 910 (Zeiss) y un Elmiskop 101 (Zeiss). Todos los reactivos utilizados fueron de Microscopy Electron Sciences.

## RESULTADOS

Como se observa en la Figura 1., la interfase feto materna (IFM) correspondiente a una placenta de 28 días de gestación consiste en la aposición del trofoblasto fetal (Fet) con el epitelio del endometrio uterino luminal (Mat). El espacio comprendido en dicha interfase feto materna, que se extiende hasta las uniones cerradas que se distinguen entre células trofoblásticas vecinas (◊), constituiría la base de la alimentación histiotrófica en este período gestacional.

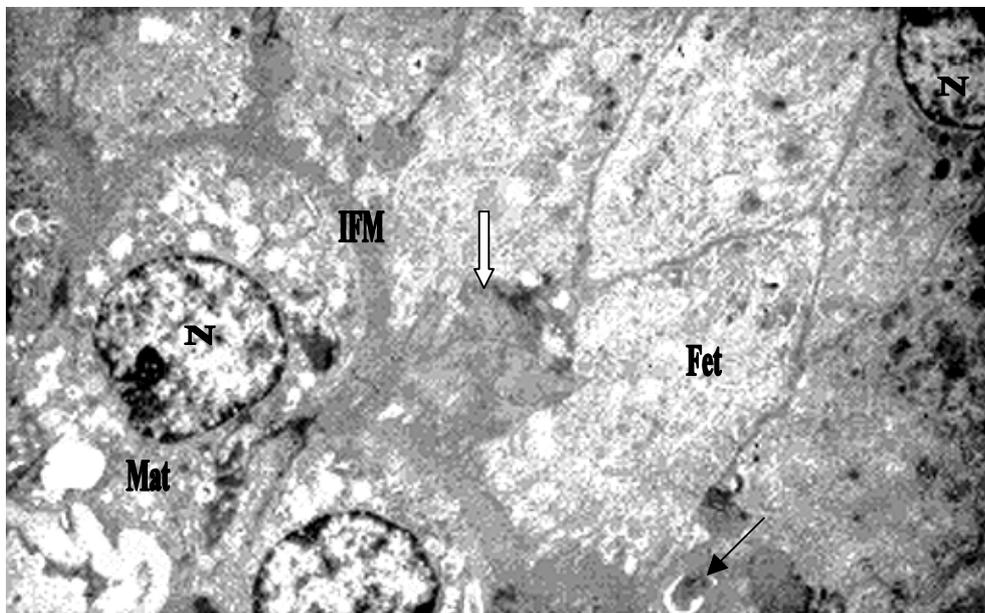


**Figura 1.** Fotografía electrónica de una interfase feto materna procedente de una placenta porcina de 28 días de preñez. Nótese las interdigitaciones de las microvellosidades del epitelio materno (Mat) y fetal (Fet) en la Interfase feto materna (IFM). Se observan gran cantidad de cuerpos electrodensos (↑), comunicación entre dichos cuerpos electrodensos (↑↑), así como glucógeno (G) y mitocondrias (m). N: núcleo y ◊ unión tipo cerrada entre células epiteliales trofoblásticas. 5.000x.

Las células epiteliales maternas y trofoblásticas se encuentran íntimamente relacionadas a través de interdigitaciones de sus microvellosidades. Se observa la presencia de gránulos electrodensos en el citoplasma de las células uterinas (↑). Dicho material electrodenso, confinado por una membrana, en la mayoría de los casos es finamente granulado y homogéneo en su estructura, variando en forma y tamaño. En algunos casos se observa comunicación entre dichos gránulos a través de pequeños túbulos (↑↑). Además, se advierte la presencia de granos de glucógeno (G) en el citoplasma de las células maternas y la presencia de numerosas mitocondrias (m), tanto en las células epiteliales maternas como en las fetales.

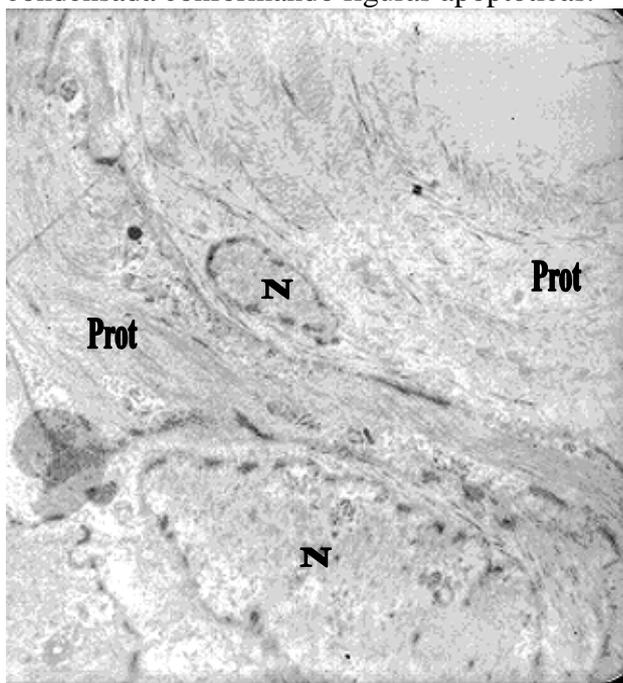
En la Figura 2, correspondiente a una placenta porcina de 69 días de gestación, el epitelio materno muestra gran actividad celular, dada la presencia de nucléolos que indican división celular. La interfase propiamente dicha y el espacio entre células epiteliales fetales, relacionado a la nutrición histiotrófica, se encuentra dilatado (∩) en comparación con el observado en interfases

feto maternas de placentas de 28 días de gestación. Además, se observa la presencia de cuerpos electrodensos con estructuras en su interior, de forma irregular, de diferente tamaño y densidad (▲) en el espacio cercano a la interfase feto materno (IFM), en contacto con las interdigitaciones formadas por las microvellosidades de las células epiteliales maternas y fetales.



**Figura 2.** Interfase feto materna de una placenta porcina de 69 días de gestación. Nótese la disposición de la interfase feto materna (IFM), así como la ubicación de los cuerpos electrodensos (▲) en el epitelio materno (Mat) y la dilatación de los espacios relacionados a la interfase feto materna (↯). N: núcleo, Fet, epitelio trofoblástico. 5.000x.

En la Figura 3, correspondiente a placentas a término, se observan células fetales placentarias secretando gran cantidad de proteínas y los núcleos de dichas células presentan su cromatina condensada conformando figuras apoptóticas.



**Figura 3:** Microscopía electrónica de tejido placentario a término en donde se observa la presencia de gran cantidad de proteínas (Prot) secretadas por las células trofoblásticas. Además, se observan núcleos (N) con su cromatina condensada.

## DISCUSIÓN

El epitelio materno del endometrio de la placenta porcina realiza el transporte activo de los nutrientes de la madre hacia el feto. En acuerdo con Whinter et al. (1999) y Dantzer et al. (1985), pensamos que serían los cuerpos electrodensos irregulares descritos anteriormente en el citoplasma de las células epiteliales maternas, los que formarían un sistema tipo lisosomal que contribuiría a la nutrición histiotrófica. En los estadios tempranos de la gestación, el epitelio uterino materno contiene más agregados de glucógeno y se encuentran numerosos cuerpos electrodensos, algunos conectados por pequeños túbulos. En la Figura 1, correspondiente a la interfase feto materna de una placenta de 28 días de gestación, o sea aproximadamente 12 días post-implantación del *conceptus*, se ha observado la presencia de los cuerpos electrodensos ubicados sobre todo en la parte basal de las células maternas. Hacia la mitad de la gestación (comparar con la Figura 2, correspondiente a una interfase feto materna de una placenta de 69 días de gestación) dichos cuerpos electrodensos se ubican en la parte luminal de las células epiteliales maternas, en la interfase propiamente dicha, presentando estructuras en su interior de forma irregular.

En los estadios tempranos de la gestación el glucógeno cumple un rol preponderante, dado que los azúcares son el mayor combustible metabólico para el feto en desarrollo. El almacenamiento de nutrientes en el epitelio materno, vía glucógeno o el de sustancias que componen los granos electrodensos, podría ser una de las formas de asegurar la nutrición de las células fetales trofoblásticas, dada las ubicaciones celulares observadas de dichos componentes.

Por el contrario, las placentas a término presentan células epiteliales con gran actividad de síntesis de proteínas. La secreción de dichas proteínas por parte de las células trofoblásticas fetales conforman un acúmulo proteico que sería el responsable de los procesos apoptóticos observados.

## CONCLUSIONES

El desarrollo de los gránulos electrodensos descrito en el epitelio materno de la placenta porcina desde el inicio de la gestación, así como la secreción de proteínas observada al final de la gestación, podrían estar relacionados a cambios anatómicos y fisiológicos que ocurren durante los diferentes períodos gestacionales. Asimismo, ellos son indicadores de los cambios fisiológicos en el accionar de las células epiteliales que conforman la placenta porcina, tanto las epiteliales maternas como las fetales, dirigidos a garantizar los nutrientes maternos necesarios para el uso fetal, posibilitando una preñez exitosa.

## AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a la Técnica de Laboratorio Srta. Analía Chanique, por su preciada colaboración en la preparación de las muestras estudiadas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amoroso, E.C.** 1952. Placentation. In Marshall's Physiology of Reproduction, vol. II, p. 127-311. Edited by Parkes, A.S. Longmans Green, London.
- Björkman, N.** 1965. On the fine structure of the porcine placental barrier. *Acta Anat* 62: 334-342.
- Björkman, N.** 1973. Fine structure of the fetal-maternal area of exchange in the epitheliochorial and endotheliochorial types of placentation. *Acta Anat.* 86 (Suppl 1): 1-22.
- Clark DA.** 1991. Controversies in reproductive immunology. *Crit. Rev. Immunol.* 11: 215-247.

- Clark, D.A.** 1999. Signaling at the fetomaternal interface. *AJRI*. 41: 169-173.
- Dantzer, V.** 1984. Scanning electron microscopy of exposed surfaces of the porcine placenta. *Acta Anat.* 118: 96-106.
- Dantzer, V.; Björkman, N.; Hasselager, E.** 1981. An electron microscopic study of histiotrophe in the interareolar part of the porcine placenta. *Placenta* 2:19-28.
- Enders, A.C.; Blankenship, T.N.** 1999 Comparative placental structure. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 38: 3-15.
- Geisert, R.D.; Yelich, J.V.** 1997. Regulation of conceptus development and attachment in pigs. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 52: 133-149.
- Kaufmann, P.; Burton, G.** 1994. Anatomy and genesis of the placenta. In *The Physiology of Reproduction*, Second Edition, Chapter 8. Edited by E. Knobil and J.D. Neill, Raven Press, Ltd., New York.
- Koncurat, M.; Greco, C.; Vivas, A.** 1999. Early pregnancy factor (EPF) in porcine placental extracts. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 23: 193-195.
- Koncurat, M.; Vivas, A.** 2000. Estudio morfológico, estructural y ultraestructural de placentas porcinas en diferentes estadios gestacionales. Resúmenes Congreso de Producción Porcina del Mercosur, Buenos Aires, Argentina, 22-25 de octubre de 2000.
- Leiser, R.; Kaufmann, P.** 1994. Placental structure: in a comparative aspect. *Exp. Clin. Endocrinol.* 102: 122-134.
- Rider, V.; Kimler, B.F.; Justice, W.M.** 1998. Progesterone-growth factor interactions in uterine stromal cells (minireview). *Biol. Reprod.* 59: 464-469.
- Robertson, S.A.** 2000. Control of the immunological environment of the uterus. *Reviews of Reprod.* 5: 164-174.
- Simmen, R.C.M.; Simmen, F.A.** 1990. Regulation of uterine and conceptus secretory activity in the pig. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)*, 40: 279-292.
- Steven, D.; Morriss, G.** 1975. In *Comparative Placentation Essays in Structure and Function*, Ed. D.H. Steven, Academic Press, London.
- Vivas, A.; Koncurat, M.; Merkis, C.; Zubeldia, D.; Fernández, S.; Greco C.** 1998. Relación entre Factor Precoz de Preñez (EPF) y progesterona en extractos placentarios porcinos. *Rev. Arg. Produc. Anim.* 18: 358-359.
- Winther, H.; Ahmed, A.; Dantzer, V.** 1999. Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two specific receptors, Flt-1 and KDR, in the porcine placenta and non-pregnant uterus. *Placenta* 20: 35-43.