



Consejo Directivo  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
Universidad Nacional de La Pampa

**RESOLUCIÓN Nº 179/2021**

**GENERAL PICO, 26 de Agosto de 2021.-**

**VISTO:**

La evaluación positiva enviada por integrantes del Comité Científico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, respecto del Proyecto de Investigación: "*Galectinas durante la placentación porcina*" y,

**CONSIDERANDO:**

Que estará bajo la dirección de la Dra. Carolina Lucia VELEZ y la co-dirección de la Dra. María del Carmen VIGLIERCHIO, participando en carácter de Asesora la Dra. Mirta KONCURAT, en carácter de Investigadoras/es las/os profesionales: Dra. Delia María WILLIAMSON, Dra. Mariángeles CLAUZURE, Dr. Claudio BARBEITO (FCV-UNLP), M.V. Mónica GARCIA, M.V. Marcelo GASTALDO, Esp. Sebastián RAMOS, M.V. Fabián SANCHEZ y M.V. Ariel SUCURRO, en carácter de Personal de Apoyo la No Docente Lorena FERNÁNDEZ y en carácter de Asistentes de Investigación la Biól. Romina GIAI, la Lic. en Química y estudiante de la carrera Medicina Veterinaria Yolanda MARRÓN y las estudiantes de Medicina Veterinaria: Natalia LÓPEZ y Lorena CÁNOVAS, todos y todas pertenecientes a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que tendrá una duración de sesenta (60) meses, a partir del 01 de Enero de 2022 y hasta el 31 de Diciembre de 2026.

Que de acuerdo a la presentación el citado proyecto es de Investigación Aplicada.

Que participa en su desarrollo el Departamento de Ciencias Básicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que el citado proyecto ha sido presentado de acuerdo con las normas vigentes y aprobado por el Comité Científico de la Facultad.

Que el Artículo 5º Anexo I de la Resolución Nº 100/99 y su modificatoria Nº 88/02 del Consejo Superior, estipula que: "*Todo Programa y todo Proyecto de Investigación que obtenga dos (2) evaluaciones externas favorables será acreditado mediante resolución del Consejo Directivo de cada Facultad a la que pertenezca*".

Que cuenta con dos (2) evaluaciones externas satisfactorias, de acuerdo con lo previsto en la Resolución Nº 100/99 y Nº 88/02 del Consejo Superior de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que las evaluaciones fueron realizadas por la Dra. Silvia MUNDO (UBA) y el Dr. Sergio CASPE (INTA EEA Mercedes).



## Corresponde a Resolución Nº 179/2021

//2.-

Que dicho proyecto cuenta con la aprobación del formulario del protocolo Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación bajo la responsabilidad el Consejo Asesor Institucional para el Uso y Cuidado de Animales de Experimentación (CAICUAE) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que en Sesión Ordinaria del Consejo Directivo del día 26 de Agosto de 2021, puesta la acreditación del Proyecto de Investigación a consideración de las/os Sras/es. Consejeras/os, es aprobada por unanimidad.

**POR ELLO:**

### EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

#### RESUELVE:

**ARTICULO 1º:** Acreditar como Proyecto de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, el proyecto denominado: "*Galectinas durante la placentación porcina*", bajo la dirección de la Dra. Carolina Lucia VELEZ y la co-dirección de la Dra. María del Carmen VIGLIERCHIO, participando en carácter de Asesora la Dra. Mirta KONCURAT, en carácter de Investigadoras/es las/os profesionales: Dra. Delia María WILLIAMSON, Dra. Mariángeles CLAUZURE, Dr. Claudio BARBEITO (FCV-UNLP), M.V. Mónica GARCIA, M.V. Marcelo GASTALDO, Esp. Sebastián RAMOS, M.V. Fabián SANCHEZ y M.V. Ariel SUCURRO, en carácter de Personal de Apoyo la No Docente Lorena FERNÁNDEZ y en carácter de Asistentes de Investigación la Biól. Romina GIALI, la Lic. en Química y estudiante de la carrera Medicina Veterinaria Yolanda MARRÓN y las estudiantes de Medicina Veterinaria: Natalia LÓPEZ y Lorena CÁNOVAS, todos y todas pertenecientes a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, el cual tiene diecinueve (19) folios y se adjunta como Anexo I de la presente Resolución.

**ARTICULO 2º:** E proyecto tendrá una duración de sesenta (60) meses, a partir del 01 de Enero de 2022 y hasta el 31 de Diciembre de 2026.

**ARTICULO 3º:** Justificar los gastos que se produzcan de pasajes, viáticos, combustibles, aparatos, material de laboratorio, etc., del citado proyecto.

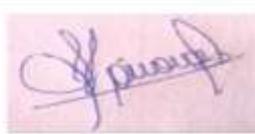
**ARTICULO 4º:** Regístrese, comuníquese, tomen conocimiento las/os interesadas/os. Pase a Secretaría de Investigación, Posgrado y Extensión. Cumplido, archívese.



TITULO: Galectinas durante la placentación porcina.

INTEGRANTES	FIRMA
VÉLEZ CAROLINA LUCÍA	
CLAUZURE MARIÁngeLES	
WILLIAMSON DELIA	
BARBEITO CLAUDIO	
KONCURAT MIRTA	
VIGLIERCHIO MARÍA	



GARCÍA MÓNICA	
GASTALDO MARCELO	
LÓPEZ NATALIA	
RAMOS SEBASTIÁN	
SÁNCHEZ FABIÁN	
SUCURRO ARIEL	
CÁNOVAS LORENA	



GIAI ROMINA	
MARRÓN YOLANDA	
FERNANDEZ LORENA	



Número de Proyecto: .....

Año: .....

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA**  
**Facultad de Ciencias Veterinarias**

**1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO****1.1. TÍTULO del PROYECTO:** Galectinas durante la placentación porcina.**1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN:** Aplicada**1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL:** 1207, 1211, 1299: Reproducción Animal**1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES:** 1407-Porcinocultura**1.5. ÁREA DE CONOCIMIENTO:** Agropecuarias y del ambiente**1.6. SUBÁREA DE CONOCIMIENTO:** Ciencias Veterinarias**2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO****2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS:** Departamento de Ciencias Básicas.**2.2. OTRAS INSTITUCIONES:****2.3. EQUIPO de TRABAJO:****2.3.1. INTEGRANTES**

Apellido y Nombre	CUIL	Título Académico	Categ Invest	Responsabilidad (1)	cátedra o institución	cargo y dedicación	horas sem
Vélez Carolina Lucía	27-28485826/9	Dra	V	D	Biología General	Ay 1 simple	15 hs
Vigliorchio, María del Carmen	23-14928306/4	Dra	IV	CD	Química Biológica	Prof. Adj. E	5 hs
Koncurat Mirta	27-5972460/1	Dra.	I	A			5 hs
Williamson, Delia María	27-24499522/0	Dra	III	I	Biología General	Prof. Adj E	7 hs
Clauzure, Mariángeles	27-30782086/8	Dra	-	I	Biología General	Ay 1 simple	6 hs
Barbeito, Claudio	20-14922728/9	Dr	I	I	Histología FCV-UNLP	Prof. Tit. E	5 hs
García, Mónica	27-13213398/6	MV	V	I	Histología	Ay 1 simple	5 hs

Gastaldo, Marcelo	20-20401442/7	MV	IV	I	Virología e Inmunol Básica	Prof. Adj. SE	5 hs
Ramos, Sebastián	20-31486758/1	Esp		I	Producción Porcina	Ay 1 simple	5 hs
Sánchez Fabián	20-20107426/7	MV	--	AI	Producción Porcina	Ay 1 simple	5 hs
Sucurro Ariel	20-25075936/4	MV	--	AI	Producción Porcina	Ay 1 simple	5 hs
Fernández, Lorena	27-21552702/1	no docente		Personal de apoyo	Laboratorio	Categoría 7	3 hs
Giai Romina	27-36220623/0	Bióloga		AI	Biología General	graduada adscripta	5 hs
López Natalia	27-32699338/2	Estudiante		AI	Biología General	estudiante adscripta	5 hs
Cánovas Lorena	27-36963409/2	Estudiante		AI	Histología	estudiante adscripta	5 hs
Marrón Yolanda	27-35240567/7	Lic. Química y Estudiante de la carrera MV		AI	Química Biológica	Ay 1 simple	5 hs

(I) D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

### 2.3.2. BECARIOS:

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

### 2.3.2. TESISTAS:

Apellido y Nombre	Título Académico al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.

### 2.3.3. PERSONAL de APOYO:

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
Fernández, Lorena	Categoría 7 No docente	3 hs

### 2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
	Director Co-Director Tesista		

## 3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 5 años

3.1. FECHA de INICIO: 01 / 01 / 22 FINALIZACIÓN: 31 / 12 / 26

**4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)**

La placenta porcina es epiteliochorial y no invasiva. Aún quedan por comprender muchos de los mecanismos que participan en la placentación de la cerda, y por qué en esta especie la reabsorción embrionaria/fetal es tan elevada. Las galectinas (Gal) son una familia de proteínas que se expresan en numerosos órganos incluidos la placenta materna y fetal. En numerosas especies se demostró la importancia de las galectinas en la regulación de la inmunidad gestacional, como así también de los procesos de adhesión celular, apoptosis, angiogénesis, migración celular e invasividad que ocurren en las placentas. Sin embargo, no se encontraron en la bibliografía estudios sobre las galectinas en la placenta porcina. Se realizarán determinaciones de Gal-1, Gal-3, Gal-9 y Gal-13, en preparados histológicos de interfase feto-materna, en suero y en homogenatos de placentas porcinas provenientes de diferentes períodos gestacionales y de cerdas no gestantes. Conocer la presencia y los distintos niveles de las galectinas en la placenta porcina en distintos momentos de la gestación aportará información de la participación de estas moléculas en la gestación normal; para luego determinar posibles variaciones a lo largo de la preñez que puedan relacionarse con la muerte embrionaria/fetal.

**4.1 Palabras claves (de 4 a 6):**

Galectinas/inmunorregulación/placenta/cerda

**4.2 Abstract en Inglés: (Máximo 200 palabras) Res. N° 097-CS-12.**

The porcine placenta is epitheliochorial and non-invasive. Many of the mechanisms involved in sow placentation remain to be understood, and why embryonic / fetal reabsorption is so high in this species. Galectins (Gal) are a family of proteins that are expressed in numerous organs including the maternal and fetal placenta. The importance of galectins in the regulation of gestational immunity, as well as the processes of cell adhesion, apoptosis, angiogenesis, cell migration and invasiveness that occur in the placentas was demonstrated in numerous species. However, no studies on galectins in porcine placenta were found in the literature. Gal-1, Gal-3, Gal-9 and Gal-13 determinations will be made in histological preparations of the feto-maternal interface, in serum and in homogenates of porcine placentas from different gestational periods and from non-pregnant sows. Knowing the presence and the different levels of galectins in the porcine placenta at different times of gestation will provide information on the participation of these molecules in normal pregnancy; to then determine possible variations throughout pregnancy that may be related to embryonic / fetal death.

**4.3. Key words (4 - 6):**

Galectins / Immunorregulation / placenta / pig

**5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES****5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA**

A nivel mundial, la porcicultura es la principal actividad pecuaria y fuente de proteína animal, ya que representa el 42% de la producción total de carne (Alonso Pesado y Rodríguez de Jesús, 2016). La producción porcina en nuestro país cuenta con numerosas ventajas intrínsecas, como son la disponibilidad de granos que conforman la base de la alimentación y el principal costo de producción, el clima favorable, las reservas de agua potable y la falta de amenazas sanitarias (García et al., 2007). Según datos la Asociación Argentina de Productores de Porcino, el consumo de carne de cerdo en la Argentina alcanzó los 14 kg/habitante/año (Calzada et al., 2017). En la producción porcina, el manejo

reproductivo es fundamental para lograr índices óptimos y una mayor eficiencia en los productores. Para ello es necesario mejorar la eficacia reproductiva, ya que uno de los parámetros que afecta a la eficiencia es el número de lechones/cerda/año (Edwards et al., 2012; Kridli et al., 2016). El número de lechones nacidos vivos por gestación en la cerda se ve afectado directamente por la tasa de ovulación, la tasa de fertilización y la supervivencia del embrión. La mortalidad embrionaria temprana sin causa específica origina la mayor cantidad de pérdidas, con valores de entre un 30% y un 40% antes del día 30 de preñez (Pope, 1994; Bazer, 2014). En nuestra región, norte de la provincia de La Pampa y sur de Córdoba, las pérdidas pueden alcanzar hasta un 50% (Bosch et al., 2001). Según otros estudios, un 15-20% de las pérdidas tienen su lugar entre los días 30 y 50 de preñez y luego ocurre un 5-10% de muerte adicional entre los días 90 y 114 de gestación (Wilson et al., 2000; Vonnahme et al., 2002; Murphy et al., 2009).

La cerda alcanza la pubertad a los 6–7 meses de edad, es poliéstrica anual, su ciclo estral dura aproximadamente 21 días con una tasa de ovulación media de 15-25 óvulos/ciclo (Town, 2005) y la gestación dura aproximadamente 114 días (Wooding and Burton, 2008). El diálogo que se establece entre el conceptus y el endometrio involucran al sistema inmunológico, a las moléculas de adhesión, que permitirán el anclaje de los epitelios materno y fetal; y a numerosas hormonas y factores de crecimiento, que actúan de manera sistematizada y llevarán al éxito de la gestación (Bazer et al., 2008; Bazer et al., 2009; Williamson, 2011; Mathew et al., 2016). Las interacciones entre el útero y el blastocisto comienzan muy temprano, inclusive antes de la implantación. En el caso del cerdo, la placenta es de tipo epiteliochorial, no invasiva, adecidua, y difusa.

En nuestro laboratorio estudiamos la expresión de las integrinas y sus ligandos a lo largo de la placentación porcina y establecimos sus potenciales relaciones con moléculas relacionadas con la inmunidad placentaria y con las hormonas esteroides. Así hemos demostrado la importancia de algunas integrinas ( $\alpha\beta3$ ,  $\alpha5\beta1$ ,  $\beta1$  y  $\alpha3$ ) y sus ligandos (fibronectina, laminina, colágeno tipo V, osteopontina y vitronectina) en la interfase fetoplacentaria a lo largo de la gestación porcina (Vélez et al., 2020) y, en particular, su interrelación con citoquinas fundamentales para el mantenimiento de la preñez (Williamson et al., 2015; Vélez, 2017; Vélez et al., 2018). En la actualidad se conoce que en este diálogo molecular participan el sistema endocrino e inmunológico, y a su vez son regulados, o regulan, a otras moléculas tales como las inmunoglobulinas, las integrinas, las moléculas de la matriz extracelular (MEC), los factores de crecimiento y las galectinas (Spencer and Bazer, 2004; Rashev et al., 2005; Ashworth et al., 2010; Bazer y Johnson, 2014; Garro et al., 2014; Mathew et al., 2016). Estas últimas sustancias se han estudiado durante la placentación de numerosas especies como humanos (Hutter et al., 2016), ratones (Arikawa et al., 2016) y perra (Conrad et al., 2016). Sin embargo, no encontramos trabajos que analicen a las galectinas durante la placentación porcina.

Específicamente, las galectinas son una familia de proteínas que se unen a su ligando mediante un dominio de reconocimiento de carbohidratos con afinidad por residuos  $\beta$ -galactósidos; su función se asocia a la regulación de la muerte celular de diversos tipos celulares, inmunomodulación, embriogénesis, adhesión celular, inflamación, metástasis y proliferación. Se han descrito 15 miembros de esta familia en mamíferos (Rabinovich y Rubinstein, 2001; Ortiz-Quintero, 2009). Estudios en medicina reproductiva en humanos y murinos e incluso en especies con placentación no invasiva, como ovinos, han despertado interés en ciertas galectinas que podrían cumplir roles fundamentales en la gestación (Iglesias et al., 1998; Unverdorben et al., 2016). Diversos autores demostraron que tanto la placenta materna como la fetal contribuyen a la expresión de las galectinas y podrían ser claves en la regulación de sistema inmune materno, como así también de la apoptosis, la angiogénesis; la migración, la invasión y la adhesión celular en las placentas (Tirado-González et al., 2013; Conrad et al., 2016; Arikawa et al., 2016; Bojić-Trbojević et al., 2019).

Estudios en humanos y ratones demostraron que la galectina 1 (Gal-1) está expresada en la interfase materno-fetal y regula la respuesta inmune contra los aloantígenos placentarios contribuyendo al mantenimiento de la preñez. Además, se ha postulado que estaría involucrada en la migración e invasión del trofoblasto humano a través de la interacción con las integrinas y moléculas de la MEC (laminina, fibronectina y osteopontina) (Iglesias et al., 1998; Tirado-González et al., 2013; Barrientos et al., 2014). Estudios en humanos sugieren que una alta expresión de Gal-3 ejerce efectos inhibidores sobre las respuestas apoptóticas de varios tipos de células (Xiao et al., 2019). Cristofolini et al (2013) y Sanchis et al (2017), hallaron índices elevados de apoptosis asociados con el desarrollo placentario, así como también al momento del parto. En nuestros trabajos observamos que este índice de apoptosis/proliferación celular, durante la gestación porcina, podría estar regulado por el sistema inmunológico, ya que hemos hallado variaciones en la expresión de diferentes citoquinas en la interfase placentaria que coinciden con los momentos en que ocurren estos cambios en la cinética celular (Vélez et al., 2019). Hasta el momento, no se han relacionado estos procesos con los cambios en la expresión de galectinas en la placenta porcina. Iglesias et al. (1998) en sus estudios en gestación ovina, postularon que las Gal-1 y Gal-3, por sus propiedades antagónicas, podrían desempeñar un papel importante en la regulación de la proliferación y muerte celular, procesos que ocurren con diferente intensidad a lo largo de la gestación y son necesarios para una placentación y una gestación exitosas.

Con respecto a la Gal-9, se ha observado que en la gestación en humanos, esta galectina es secretada por las células trofoblásticas y puede inducir en las células asesinas naturales (NK) la transformación en un fenotipo decidual de NK (dNK), definido por concentraciones elevadas de IL-4, niveles bajos del factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , generando, como consecuencia, la disminución de las capacidades citotóxicas que pasan a tener una función fundamental para el mantenimiento de la gestación (Enninga et al., 2018). En nuestro laboratorio hemos hallado niveles elevados de IL-4 en la interfase placentaria porcina en etapas específicas de la placentación (Vélez et al., 2019); a pesar de las diferencias entre los tipos de placentación, postulamos que la elevada concentración de IL-4 que observamos en placenta en nuestro laboratorio, podría estar siendo regulada su secreción con la presencia de Gal-9. Hasta la fecha no hemos encontrado estudios que analicen la Gal-9 en placenta porcina. Estudios en humanos detectaron la Gal-13 en suero materno a partir de las siete semanas de gestación, y durante el embarazo su expresión en sincitiotrofoblasto disminuye. Unverdorben et al. (2015) postulan que Gal-13 con sus funciones antiinflamatorias desempeña un papel en la regulación del sistema inmune materno. No se ha hallado estudios en gestación porcina que determinen la presencia de la Gal-13.

Durante la gestación porcina se encuentran etapas en las que predomina un ambiente proinflamatorio-apoptótico, por ejemplo, durante la gran remodelación placentaria que ocurre entre los días 60 a 80 de gestación (Sanchis et al., 2017); con presencia en la interfase de interleuquinas tanto citotóxicas como inmunorreguladoras (Vélez et al., 2019; 2020). En base a los antecedentes previos, nos lleva a postular que, como ocurre en otras especies, las galectinas mencionadas podrían cumplir un rol fundamental regulando la expresión de distintas citoquinas en distintos periodos de la gestación porcina. Las hipótesis de este trabajo son: H1) la expresión y localización de galectinas en la gestación porcina está relacionada con los cambios que ocurren en la placenta y el feto a lo largo de la gestación. H2) La expresión de galectinas en la gestación de la cerda se relaciona con la expresión de otras moléculas, a las que podría regular, como es el caso de ciertas citoquinas.

**5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)**

**Trabajos publicados en Revistas**

IFN- $\gamma$  and IL-10: seric and placental profile during pig gestation. Carolina Vélez, Mariángeles Clauzure, Delia Williamson, Mirta A. Koncurat and Claudio Barbeito. Anais da Academia Brasileira de Ciências. Aceptado para su publicación. Octubre 2020.

Vélez, CL; Williamson, DM; Clauzure, M; Koncurat, MA; Barbeito, CG. Inmunolocalización de la integrina  $\alpha 5\beta 1$ , la laminina y el colágeno tipo V en placenta porcina en diferentes etapas gestacionales. InVet Vol. 21 N° 2, 2019.

Vélez C.; Barbeito CG; Koncurat MA. IL-1 $\beta$ , IL-2 and IL-4 concentration during porcine gestation. Theriogenology. 2019;128:133-39.

Williamson D; Riesco O; Barbeito C; Koncurat M. Perfil y rol de citoquinas en suero, homogenatos placentarios maternos y fetales a través de la gestación porcina. REDVET. 2015 vol.16 n°8. p1 - 14. ISSN 1695-7504.

Williamson D M; Riesco O F; Vélez, C y Koncurat, M A. Determinación de la concentración de IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-12, IL-15 e IL-18 en suero, extractos placentarios maternos y fetales a través de la gestación porcina. 2011. Ciencia Veterinaria. ISSN: 1515-1883.

Williamson, D; Yaful, G; Riesco, O y Koncurat M. Progesterona, estrógenos y expresión de integrinas en la gestación temprana porcina 2008. Revista Ciencia Veterinaria (ISSN: 1515-1883), 10(1):13-22.

**Trabajos presentados y publicados en congresos y jornadas Internacionales**

Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Clauzure, Mariangeles; Koncurat, Mirta; Barbeito, Claudio Gustavo. 2019. Expositor. INF $\gamma$  and IL-10 seric and placental profile during porcine gestation. Argentina. Buenos Aires. 2019. International Federation of Placenta Associations-IFPA 2019/ VIII Latin American Symposium on Maternal-Fetal Interaction and Placenta-SLIMP.

Publicado en: Vélez C., D. Williamson, M. Clauzure, M. Koncurat, C.G. Barbeito. (2019) INF $\gamma$  and IL-10 seric and placental profile during porcine gestation. Placenta, Volume 83. ISSN 0143-4004.

Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Koncurat, Mirta. IL-1b, IL-2, IL-4 and IL-10 profile during porcine gestation.. Estados Unidos de América. Pennsylvania. 2017. Revista. Resumen. Congreso. Latin American Society for Maternal Fetal Interaction and Placenta (SLIMP), Sociedad Chilena de Ciencias Fisiológicas (SCHCF).

Publicado en: Vélez C., D. Williamson, M. Koncurat. (2017) IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4 and IL-10 profile during porcine gestation. Placenta, Volume 51. ISSN 0143-4004

Progesterone Receptors and Progesterone Concentration in Serum and Porcine Maternal Placental Extracts. Lacolla D; Viglierchio M; Williamson D; Koncurat M; García M; Williams S; Yaful G; RIESCO O. Chile. Providencia. 2015. Revista. Resumen. Otro. VI SLIMP & V LASRI. Latin American Society for Maternal Fetal Interaction and Placenta.

Determination of IL-6, Progesterone and Estrogens During Early Pregnancy in Pigs. Koncurat, M A; Yaful G N, Riesco O F y Williamson, D M. Biocell. ISSN: 0327 – 9545.Vol.: 35(2). Pag. A142. 2011.

Estrogen, progesterone and integrins during porcine placentation. Williamson Delia, Riesco Oscar, Alonso Gabriela, Hernandez Mabel, Moschetti, Koncurat Mirta. III Latin-American Symposium on Maternal-Fetal Interaction Placenta – Research & Clinical. November 4-7, 2007 Los Cocos, Argentina. Vol III, 63-64, 2007.

Concentración de Progesterona y expresión de las Integrinas  $\alpha v\beta 3$ ,  $\beta 1$  y  $\alpha 3$  durante la placentación porcina. Williamson Delia, Yaful Graciela, Riesco Oscar, Koncurat Mirta.

XX Reunión Latinoamericana de Producción Animal, XXX Reunión Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal y V Congreso Internacional de Ganadería de Doble Propósito. Artículo Completo. Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol 15 (Supl. 1) 2007. Pag 336-340.

### **Trabajos presentados y publicados en congresos y jornadas Nacionales**

Giai LR, Williamson D, Vélez C, Clazure M. 2020. Interleukin-6 Concentration In Serum And Placental Extracts During Porcine Gestation Buenos Aires. Reunión De Sociedades de Biociencias 2020. 10-13 de noviembre de 2020.

PUBLICADO EN MEDICINA (Buenos Aires) - Revista bimestral – Vol 80, supl V ISSN 0025-7680 (Impresa) – ISSN 1669-9106 (En línea)

Koncurat, Mirta Adriana; Williamson, Delia María; Vélez, Carolina Lucía; Fernandez Lorena; Lopez Natalia; Clazure Mariángel; Giai Romina; Marega Nahuel. 2019. Expositor oral. Estudio de citoquinas durante la placentación porcina. General Pico. La Pampa. 2019. I Jornada de Ciencia y Técnica y Extensión. IV Jornada Interinstitucional. Facultad de Ingeniería-Facultad de Ciencias Veterinarias.

Vélez Carolina, Williamson Delia, Lopez Natalia, Clazure Mariangeles, Koncurat Mirta, Barbeito Claudio. 2019. Expositor. Relación entre la expresión de osteopontina y la de citoquinas durante la placentación porcina. Buenos Aires. La Plata. 2019. XII Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria.

PUBLICADO EN ISSN 1852-771X Rev. med. vet. (En línea) 2020, 101(1): 14 – 59.

Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Garro, Adriana; Clazure, Mariangeles; Barbeito, Claudio Gustavo; Santa Coloma, Tomas; Koncurat, Mirta. Concentración de IFN-g, IL-2 E IL-4 en suero y placenta porcina. Argentina. Buenos Aires. 2018. Revista. Resumen. Jornada. VIII Jornadas de Jóvenes Investigadores - 2018. Facultad De Ciencias Veterinarias. UBA.

Vélez C; Williamson D; Barbeito C; García M; Koncurat M. Integrinas y Ligandos en Interfase Placentaria Porcina. Memorias. Córdoba. 2018. VII Congreso de Producción Porcina del Mercosur. Universidad Nacional de Rio Cuarto. ISBN 978-987-688-276-7.

Vélez C.L.; Williamson D.M.; García M.G.; Barbeito C. y Koncurat, M.A. Estudio de la expresión de integrinas y sus ligandos en la interfase feto-materna durante la gestación porcina. Mar del Plata, 2018. 41º Congreso Argentino de Producción Animal. Revista Argentina De Producción Animal Vol 38 Supl. 1: 33-56 (2018). ISSN: 0326-0550

Garro, Adriana; Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Barbeito, Claudio Gustavo; Koncurat, Mirta. Presencia de Anticuerpos IgG asimétricos e IL-15 durante la gestación porcina. Argentina. Salta. 2018. Revista. Resumen. XI Jornadas y Reunion Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. UCASAL y AAIV.

Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Garro, Adriana; Lopez, Natalia; Koncurat, Mirta; Barbeito, Claudio Gustavo. Osteopontina e integrina avb3 en la interfase placentaria porcina. Argentina. Salta. 2018. Revista. Resumen. XI Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. UCASAL y AAIV.

Koncurat, Mirta; Williamson, Delia; Garro, Adriana; Vélez, Carolina; Viglierchio, Ma Del Carmen; Riesco, Oscar; Lacolla, Daniel; García, Mónica; Bruni, María. Placentación Porcina. Argentina. General Pico, La Pampa, Argentina. Revista. Resumen. Jornada. Jornada de Ciencia y Técnica. 2018. UNLPam

Williamson, Delia; Koncurat Mirta; Vélez, Carolina; García, Mónica; Bruni, María; Garro, Adriana; Lopez, Natalia. Expresión de integrina avb1 y sus ligandos, osteopontina y vitronectina en distintos estadios de la placentación porcina. Argentina. Santa Rosa. 2018. Libro. Resumen. Jornada. Jornadas de ciencia y técnica UNLPam 2018. UNLPam

Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Garro, Adriana; Clazure, Mariangeles; Gastaldo, Keila; Soler, Jimena; Alderete, Sergio; Marron, Yolanda; Viglierchio, Ma Del Carmen; Koncurat, Mirta. Concentración de IFN-g en suero y placenta porcina. Argentina. capital federal. 2017. Revista. Resumen. Simposio. I Simposio Internacional y X Jornadas y

Reunion Anual de la Asociacion Argentina de Inmunología Veterinaria. FVET-UBA y AAIV.

Koncurat M; Williamson D; Bruni M; García M; Garro A; Gelada M; Hernandez M; Martin P; Riesco O; Salas C; Sampedro F; Vélez C; Viglierchio M; Alderete S; Rodriguez Ruiz M. Estudio De Moléculas De Adhesión Que Participan En La Placentación Porcina. Santa Rosa. 2017. X Jornada de Ciencia y Técnica. III Jornada Interinstitucional Facultad de Ciencias Veterinarias-Facultad de Ingeniería UNLPam. FCV, FCI. UNLPam. ISBN: 978-950-863-314-9.

Vélez, Carolina; Williamson, Delia; Clauzure, Mariangeles; Koncurat, Mirta. Relación entre IL-1b, avb3 y fibronectina durante la gestación porcina. Argentina. Buenos Aires. 2017. Revista. Resumen. Jornada. V Jornadas INITRA 2017. FVET-UBA

Determinación de IL-1b e IL-10 Durante la Gestación Porcina. Vélez C; Williamson D; García M; Koncurat M. Argentina. Resistencia. 2016. Congreso. Congreso Porcino Mercosur.

Determinación de IL-2 e IL-4 durante la gestación porcina. Vélez, C L, Williamson, D M, Koncurat, M A. Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. Capítulo de la Sociedad de Medicina Veterinaria. IX Jornadas y Reunión Anual. AAIV 2016.

Estrógenos y Expresión de la Integrina avb3 y Fibronectina en la Interfase Feto-Placentaria durante la Gestación. Williamson D; Martin P; Vélez C; Koncurat M. Argentina. Río Cuarto. 2014. Libro. Artículo Breve. Congreso. VII Congreso de Producción Porcina del Mercosur. Universidad Nacional de Río Cuarto.

Interrelación de IL-15 y estrógenos durante la preñez porcina temprana. Koncurat M, Williamson D y Yaful G en: LVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, LX Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología. 2013

Fibronectina y Progesterona durante la gestación porcina. Vélez C, Williamson D, Bruni M, Riesco O, Garro A, Yaful G y Koncurat M. VI Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología. Noviembre de 2013.

Determinación de IL-15, IL-18 y Progesterona Durante la Gestación Porcina. Williamson D, Riesco O, Vélez C y Koncurat. XI Congreso Nacional de Producción Porcina, VI Congreso de Producción Porcina del Mercosur. 2012.

Determinación de Receptores de Progesterona en Placenta Fetal Durante la Placentación Porcina. Yaful G, Viglierchio M, García M, Iglesias G, Torres P, Soler I, Williamson D y Rossi D. XI Congreso Nacional de Producción Porcina, VI Congreso de Producción Porcina del Mercosur. 2012.

Interrelación de Progesterona, Estrógenos e IL-15 Durante la Preñez Porcina Temprana. Viglierchio M, Williamson D, Yaful G, Koncurat M. V Jornadas Científicas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. 2012.

Concentración de Interleuquina-15 en Suero y Extractos Placentarios Porcinos Durante la Preñez Porcina. Vélez C, Williamson D, Riesco O y Koncurat M. V Jornadas Científicas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. 2012.

Concentración de Interleuquina-15 y Progesterona en Extractos Placentarios Maternos, Fetales y Suero en la Preñez Porcina. Koncurat, M A; Riesco, O F; Vélez, C y Williamson, D. IV Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. ISBN: 978-950-665-697 - Determinación de la concentración de IL-18, IL-15, IL-12, IL-6 e IFN- $\gamma$  en homogenatos placentarios maternos, fetales y suero a través de la gestación porcina. Koncurat, M A; Riesco, O F; Vélez, C y Williamson, D M. XXII Reunión Latinoamericana de Producción Animal. Montevideo. Uruguay. 24-26 de Octubre de 2011.

Concentration of IL-6, IL-12 and IFN- $\gamma$  in serum and placental extracts during porcine gestation. Koncurat, M; Williamson, D; Vélez, C y Riesco, O. LVIII Reunión

Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología. 2-5 noviembre, 2010. Buenos Aires, Argentina. 2010.

Determinación de IL-6, progesterona y estrógenos en la preñez porcina temprana. Koncurat, MA; Yaful, GN; Riesco, O; Williamson DM. En: Asociación de Biología de Tucumán, XXVII Jornadas Científicas. 13-15 de octubre de 2010. Tafí del Valle, Tucumán, Argentina. 2010.

Determinación de la concentración de IL-18, IL-15, IL-12, IL-6 e IFN- $\gamma$  en homogenatos placentarios maternos, fetales y suero a través de la gestación porcina. Koncurat, MA, Riesco OF, Vélez C y Williamson, DM. XXII Reunión Latinoamericana de Producción Animal.

Determinación de la concentración de IL-18, IL-15 e IL-12 en suero, homogenatos placentarios maternos y fetales durante la gestación porcina. Williamson D, Riesco O, Vélez C y Koncurat M. X° Congreso de la Asociación Latinoamericana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; X° Congreso Nacional de Producción Porcina. 8 al 11 de agosto de 2010. Mendoza Capital. (ISBN: 978-950-665-616-4), Pp: 277.

### **5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:**

#### **Beca Estancias Cortas Fundación Carolina.**

Periodo: 07 enero 2021- 07 marzo 2021. Becaria/o: VÉLEZ, Carolina Lucía.

Director de Beca: BARBEITO, Claudio Gustavo (UNLPam-UNLP) – BADIOLA, Juan José (Universidad de Zaragoza).

Título del proyecto: "Estudio de la expresión de Galectinas durante la placentación porcina".

## **6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO**

### **6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO**

#### **PROBLEMA CIENTÍFICO**

La cerda posee un elevado índice de pérdida embrionaria/fetal. Aún no se conocen por completo los mecanismos moleculares que permiten una gestación exitosa. La placentación porcina depende de la correcta interrelación de las moléculas del sistema endocrino e inmunológico. Las galectinas participan en la inmunorregulación de la placentación de diferentes especies. Analizar su presencia en la placenta porcina nos permitirá avanzar en el conocimiento de su rol durante la placentación en cerdos. Estos resultados podrán ser la base para plantear futuros proyectos que analicen su comportamiento en la pérdida embrionaria/fetal, tan relevante en esta especie, y diseñar estrategias de intervención.

#### **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la expresión de las galectinas durante la placentación porcina con el fin de determinar su potencial importancia en el ambiente inmunológico generado en la interfase feto/materna.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar dosajes de Gal-1, Gal-3, Gal-9 y Gal-13 en suero y Homogenatos de placenta porcina provenientes de diferentes períodos gestacionales.
- Determinar Gal-1, Gal-3, Gal-9 y Gal-13 en cortes desparafinados de interfase feto materna.
- Establecer posibles relaciones entre los niveles de galectinas hallados durante el desarrollo placentario de la preñez porcina.
- Relacionar la presencia espacio-temporal de la expresión de las galectinas con la presencia de citoquinas y hormonas determinadas en nuestros trabajos previos.

**HIPÓTESIS**

-La expresión y localización de glectinas en la gestación porcina está relacionada con los cambios que ocurren en la placenta y el feto a lo largo de la gestación.

-La expresión y localización de glectinas se relaciona con otras moléculas a las que podría regular, como es el caso de ciertas citoquinas.

**RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO**

Éste estudio aportará conocimientos sobre la gestación porcina que brindará información acerca de los mecanismos involucrados en las pérdidas embrionarias y fetales, patologías de suma importancia que afectan a esta especie. Lograr disminuir dichas pérdidas provocará un incremento en la productividad que impactará en las empresas de ganado porcino.

**6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS.**

Los métodos necesarios para la realización de los objetivos del trabajo están siendo aplicados actualmente en el lugar de trabajo propuesto, por lo que no se esperan dificultades técnicas mayores.

**3.1. Animales:** Se utilizarán un total de 24 tractos reproductivos de cerdas Landrace x Yorkshire provenientes del centro de producción de genética porcina, del Instituto de Medicina Reproductiva Veterinaria (IMERVET), de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de la Pampa, General Pico, La Pampa. Los animales se sacrificarán en el frigorífico de la ciudad de Intendente Alvear “Frigorífico Rojas”. Las muestras se tomarán en distintos momentos de la gestación: peri-implantación (16-20 dg n=4), placentación temprana (30-35 dg; n=4), placentación media (60-65 dg; n=4), placentación tardía (70-80 dg; n=4) y a término (114 dg, día del parto; n=4). Además, se procesarán 4 muestras de sangre y de endometrio provenientes de cerdas no gestantes (NG) para utilizarlas como control. Se estimará la edad gestacional de las placentas de acuerdo a la longitud céfalo-caudal de los fetos obtenidos de cada cerda gestante (Marrable, 1971). Las etapas de gestación fueron seleccionadas de ese modo, ya que en ellas se ocurren procesos moleculares y fisiológicos indispensables para una gestación exitosa. A los 16-20 dg finaliza la etapa de implantación en la gestación porcina. A los 30 dg comienza la osificación y el desarrollo del sistema inmunológico. Alrededor de los 60 dg se alcanza el mayor crecimiento placentario y se establece, entre los 70 y 80 dg un estado de meseta en su desarrollo para comenzar, a partir de esta etapa, los fetos a crecer de manera exponencial; también se observa la mayor remodelación placentaria celular determinada por estudios de apoptosis (Sanchis *et al.*, 2017). Los 114 dg (período a término) marcan el fin de los eventos celulares y moleculares que permitían la gestación y el individuo se prepara para el parto.

**3.1.1. Placentas:** Las placentas se lavarán con solución salina de Hank's (SSH), conteniendo 10.000 U/ml de penicilina G sódica, 10 mg/ml de sulfato de estreptomina y 2,5 ug/ml de fungizona, manteniéndolas a 4°C hasta su procesamiento inmediato en el laboratorio. Se detectará la ubicación de los embriones/fetos y se realizará la toma de muestra de la interfase feto-materna. Inmediatamente se la preservará para realizar técnicas histológicas. Seguidamente, se realizará la incisión en el borde anti-mesometrial de los cuernos uterinos, en el sitio de implantación, de cada unidad feto-materna, comenzando del ovario izquierdo y hacia la derecha. Luego, se separarán con cuidado las placentas maternas de las fetales y se tomará una muestra de cada placenta para la realización de homogenatos placentarios. De cada embrión/feto se registrarán las medidas de peso y longitud.

**3.1.2. Extracción de sangre y obtención de suero:** Con respecto a las muestras provenientes de frigorífico, se obtendrá la sangre por corte de la vena yugular. En el caso

de las muestras de 114 dg, período a término, se le extraerá sangre por el método de flebotomía. La vena de elección será la yugular. La sangre se dejará a temperatura ambiente hasta lograr adecuada retracción del coágulo y exudado del suero. Luego se centrifugará a 1800 rpm durante 10 minutos, para clarificar el suero, se fraccionará en alícuotas y conservará a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

3.2. Análisis de la estructura de la placenta y útero. Se realizará la técnica tradicional de Hematoxilina y Eosina (Luna, 1968). La observación se realizará a través de un microscopio óptico Axiophot (Carl Zeiss), adquiriendo las imágenes mediante una cámara digital Powershot G20 (Canon INC, Japón) adosada al microscopio.

3.3. Obtención de homogenatos de tejido placentario y uterino: Los homogenatos de placenta materna (HoPM), homogenatos de placenta fetal (HoPF) y homogenatos útero no gestante (HoU) se procesarán de la siguiente manera: se desmenuzará 5 g de tejido placentario porcino mediante tijeras y un mortero de manera tal que se obtenga una pulpa. Una parte de la pulpa de placenta se homogenizará con tres partes de solución fisiológica. Luego, para descartar los pequeños restos de tejido se centrifugará a 1700 rpm durante 5 minutos. Los sobrenadantes se alícuotarán y conservarán a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

3.4. Determinación de Galectinas por inmunohistoquímica: *Técnica inmunohistoquímica:* Determinación de la GAL-1, GAL-3, GAL-9 y GAL-13: Mediante la técnica de inmunohistoquímica, por inmunoperoxidasa, se determinará la presencia de galectinas. Brevemente, a los cortes histológicos obtenidos según el párrafo 3.2.1, serán desparafinados, rehidratados y luego lavados con solución salina tamponada (pH 7,3). Los cortes serán previamente tratados con  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 3%, se les realizará recuperación antigénica y se los tratará luego con bloqueante de biotina endógena (Avidin Biotin blocking reagents, Cell Marque, USA). Seguidamente, se incubarán con el anticuerpo primario (Abcam, USA) a  $4^{\circ}\text{C}$  toda la noche. Posteriormente serán incubados con el anticuerpo secundario biotinilado, y tratados con el complejo de peroxidasa–estreptavidina. Se incubarán con solución cromógena (diaminobenzidina: DAB) y se teñirán con hematoxilina de Mayer, como contraste. Se deshidratarán y montarán con Bálsamo de Canadá (Biopur, Argentina). Todas las muestras se observarán con un microscopio óptico Zeiss (Alemania) y se tomarán imágenes con una cámara Canon, adosada al microscopio, PowerShot G6, de 7.1 megapíxeles (Canon, Tokio Japón) y adquiridas con el software Axiovision (AxioVision 4.8, Carl Zeiss) y procesadas en formato TIFF. A las imágenes se las analizará mediante un software, determinando la densidad óptica y el área inmunomarcada de las galectinas expresadas.

3.5. Determinación de galectinas en sueros y homogenatos:

*Cuantificación de proteínas:* se realizará la cuantificación de proteínas de los homogenatos de útero no gestante, homogenatos de placenta materna, homogenatos de placenta fetal y sueros de las cerdas seleccionadas para este estudio. Se realizará la técnica BCA (Bicinchoninic acid assay) mediante un kit comercial (Thermo Scientific™ Pierce™ BCA Protein Assay Kit, USA).

*Técnica de Western Blot:* en caso de que los anticuerpos primarios no hayan sido probados en la especie porcina, se validará su determinación analizando las muestras por Western Blot. Brevemente: Se realizará mediante procedimientos de rutina usados en el laboratorio mediante SDS-PAGE y transferencia a membrana de nitrocelulosa o PVDF. Se usarán los anticuerpos primarios necesarios y anticuerpos secundarios acoplados a fosfatasa alcalina o “peroxidasa” para revelar según sea necesario. En el caso de usar fosfatasa alcalina, el revelado se realizará con los sustratos NBT-BCIP. Para el caso de usar peroxidasa, el revelado se realizará con los reactivos adecuados usando un documentador de geles (GE 4100).

**3.6. Análisis Estadístico:** A los resultados de la expresión de las moléculas determinadas por inmunohistoquímica, se los analizará de la siguiente manera: *Análisis semicuantitativo:* primero se observará la totalidad de los preparados con aumentos de 40X, 100X y 400X (microscopio óptico Carl Zeiss, Alemania) y se realizará un análisis semicuantitativo, tal como fue expresado por Conrad y col (2016), con una escala establecida, determinando que: (-)= negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. *Análisis cuantitativo:* Las imágenes (con aumento 400X) se procesarán con el software ImageJ, (Ferreira y Rasband, 2012), expresando los resultados de un modo cuantitativo (Vasconcellos et al., 2014). Brevemente, se realizará la separación de colores mediante la herramienta “*color deconvolution*” lo cual permitirá separar la imagen original en tres imágenes monocromáticas (rojo-verde-azul: RGB, siglas en inglés), que contienen los colores del método inmunohistoquímico de Estreptavidina-Biotina-Peroxidasa (SBP). Entre las imágenes RGB, se creará una imagen correspondiente al revelado con DAB de color marrón. Debido a que las regiones de interés son aquellas que expresan una tinción de color marrón, sólo la imagen de 8-bit DAB se conservará. Seguidamente, se determinará sobre la interfase placentaria (epitelio luminal endometrial y trofoblasto), la densidad óptica (DO) y el porcentaje de área inmunomarcada (%AIM) de las galectinas. *Determinación de la DO:* se procederá a delimitar sólo el área inmunomarcada sobre cada estructura a evaluar y con la herramienta “Analyze/Measure” se obtendrá el promedio del nivel de intensidad de marrón (Mean). Se utilizará la siguiente fórmula:  $DO = \text{Log}(\text{max}/\text{media})$ , donde:  $\text{max} = 255$  para una imagen de 8-bit. Esto cuantificará la inmunotinción promedio del área analizada de la imagen debido a la señal del DAB. Los resultados de la DO se expresarán como el promedio de los datos obtenidos de 20 fotos tomadas de cada estructura estudiada. *Determinación del %AIM:* Sobre las mismas imágenes de 8-bit DAB, utilizadas para la determinación de la DO, se procederá a delimitar el área a analizar donde la molécula a cuantificar mostró su marca. Se realizará la segmentación del área a cuantificar, mediante el uso de la herramienta “threshold” (umbral), con el fin de separar los píxeles más oscuros que el valor de umbral. Mediante esta selección se podrá observar las áreas que presentaron inmunotinción, y distinguirlas de aquellas con tinción negativa. El resultado se expresará como la proporción entre el área específicamente marcada y el área total del epitelio de cada imagen: %AIM. Los resultados se expresarán como el promedio de los datos obtenidos de 20 fotos analizadas. *Análisis de los resultados:* Los resultados de la determinación de la DO y el AIM serán analizados utilizando el *software Infostat*, mediante un análisis de varianza ANOVA y el test de Tukey. Se considerará un valor  $p < 0,05$  como estadísticamente significativo. Con respecto a los datos obtenidos de la determinación de galectinas en sueros, extractos placentarios y extractos de útero no gestante, las diferencias en las concentraciones de estas moléculas entre los diferentes períodos de gestación, serán analizadas mediante un ANOVA y el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). En el caso que no se cumpla el supuesto de homogeneidad de varianza y normalidad, se utilizará un test de varianza no paramétrica, Kruskal-Wallis.

### **6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS**

Se espera que los conocimientos que aporte este proyecto de investigación contribuyan a comprender los mecanismos fisiológicos que participan en la placentación de la cerda gestante y las moléculas implicadas en las interacciones entre el conceptus y la placenta materna. Dichos conocimientos se podrán utilizar para optimizar la capacidad uterina, la sobrevivencia de los embriones/fetos y la salud reproductiva porcina.

Un mejor conocimiento de los mecanismos que median las interacciones entre el *conceptus*/embriones/fetos y el tracto reproductivo de la cerda brindará elementos sobre los procesos involucrados en el correcto desarrollo de la placentación porcina que permitirá

dilucidar mecanismos acerca de las pérdidas embrionarias. Aportará también conocimiento en las causas que afectan la uniformidad y el crecimiento potencial de los lechones recién nacidos, parámetros muy deseables en los sistemas productivos intensivos, extensivos y mixtos.

Poder desarrollar este estudio permitirá la formación de recursos humanos en la investigación científica, tanto en la adquisición de habilidades intelectuales como en destrezas manuales necesarias para la realización de la parte experimental. Este estudio permitirá generar conocimientos en el área de la reproducción animal, particularmente en los mecanismos fisiológicos e inmunológicos que participan en la placentación de la cerda gestante.

En distintas especies las galectinas demostraron participar en diferentes procesos relacionados con el mantenimiento de la preñez. Conocer la presencia y los distintos niveles de las galectinas en la placenta porcina en distintos momentos de la gestación aportará información de la participación de estas moléculas en la inmunorregulación de la gestación normal; para luego determinar posibles variaciones relacionadas con la muerte embrionaria / fetal. Esta información podría contribuir al desarrollo de estrategias que incrementen la tasa de sobrevivencia embrionaria/fetal en esta especie de alto valor productivo, lo que redundará en beneficios económicos a los productores porcinos.

#### 6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

##### Año 1

Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Revisión Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Toma de muestra				x	x	x	x	x	x	x	
Dosaje de galectinas							x	x	x	x	x
Presentación en Congresos/Publicaciones									x	x	x
Informe de Avance											x

##### Año 2

Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Revisión Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Toma de muestra				x	x	x	x				
Dosaje de galectinas	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Presentación en Congresos/Publicaciones			x	x	x	x	x	x	x	x	x
Informe de avance											x

##### Año 3

Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Revisión Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Toma de muestra				x	x	x	x				
Dosaje de galectinas	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Presentación en Congresos/Publicaciones		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Informe de avance											x

##### Año 4

Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Revisión Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Toma de muestra				x	x	x	x				
Dosaje de galectinas	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
Presentación en Congresos/Publicaciones		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x



5° año: \$ 50.000

**Total del proyecto: \$ 160.000**

\* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.

### **8.1. BIBLIOGRAFÍA**

- Alonso Pesado F, Rodríguez de Jesús E. La Carne de Cerdo en el Mundo y las Importaciones y Exportaciones del Producto por México. Los Porcicultores y su entorno. 2016;18(110):64–74. [online]
- Arikawa Tomohiro, Shengjun Liao, Hiroki Shimada, Tomoki Inoue, Hiromi Sakata-Haga, Takanori Nakamura, Toshihisa Hatta & Hiroki Shoji. Galectin-4 expression is down-regulated in response to autophagy during differentiation of rat trophoblast cells. Scientific Reports. 2016; 30(6):32248.
- Ashworth MD, et al. Endometrial caspase 1 and interleukin-18 expression during the estrous cycle and peri-implantation period of porcine pregnancy and response to early exogenous estrogen administration. Reprod Biol Endocrinol. 2010;8:33.
- Bazer FW, Spencer TE, Johnson GA. Interferons and uterine receptivity. Semin Reprod Med 2009;27(1):90-102.
- Bazer FW, Johnson GA. Pig blastocyst–uterine interactions. Differentiation. 2014;87:52–65.
- Barrientos G1, Freitag N, Tirado-González I, Unverdorben L, Jeschke U, Thijssen VL, Blois SM. Involvement of galectin-1 in reproduction: past, present and future. HumReprod Update.2014;20(2):175-93.
- Bojić-TrbojevićŽ, et al. Human trophoblast requires galectin-3 for cell migration and invasion. Sci Rep. 2019; 9: 2136.
- Bosch RA, Alanis GA, Allende RA, Blanch MS, Bosch P, Callejas S. Mortalidad embrionaria basal en las especies domésticas de interés productivo. En: Actualización en temas de reproducción animal. 1ra Edición. Ed. UNRC. Río Cuarto. 2001;150-52.
- Calzada J, Di Yenno F, Frattini C. Bolsa de comercio de Rosario. Informativo semanal. 2018. Año XXXVI - ed 1860; 1-18
- Conrad M, Freitag N, Diessler M, Hernandez R, Barrientos G, Rose M, Casas L, Barbeito C, Blois S. Differential spatiotemporal patterns of galectin expression are a hallmark of endotheliochorial placentation. Am J Reprod Immunol. 2016;75:317–25.
- Cristofolini A, Sanchis G, Moliva M, Alonso L, Chanique A, Koncurat M and Merkis C. Cellular Remodelling by Apoptosis During Porcine Placentation. Reprod Dom Anim.2013; 48, 584–90.
- Edwards A, Wessels J, Kerr A, Tayade C. An overview of molecular and cellular mechanisms associated with porcine pregnancy success or failure. Reprod Domest Anim. 2012;47(4):394–401.
- Enninga EAL, et al. Immune checkpoint molecules soluble program death ligand 1 and galectin-9 are increased in pregnancy.Am J Reprod Immunol. 2018;79(2).
- Ferreira T, Rasband W. ImageJ User Guide. Ed. IJ 1. 46r. 2012:1–198.
- García, S., El Mercado de carne de cerdo en Argentina y en el mundo. Fericerdo, Ed INTA E.E.A. Marcos Juárez. Asociación Argentina de Productores de Porcinos. 2007:1-6.
- Garro, Adriana; Hernández, Mabel; García, Mónica; Koncurat, Mirta. Inmunoglobulina G y su receptor Fc durante la placentación porcina. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 2014;15(12):1-14.
- Hutter S, et al. Placental Expression Patterns of Galectin-1, Galectin-2, Galectin-3 and Galectin-13 in Cases of Intrauterine Growth Restriction (IUGR). Int J Mol Sci. 2016;17(4):523.
- Iglesias M, Rabinovich GA., Ivanovic V, Sotomayor C; Wolfenstein-Todel C. Galectin-1 from ovine placenta Amino-acid sequence, physicochemical properties and implications in T-cell death. Eur. J. Biochem.1998;252.
- Kridli RT, Khalaj K, Bidarimath M, Tayade C. Placentation, maternal–fetal interface, and conceptus loss in swine.Theriogenology 2016;85(1):135–144.
- Luna L. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces. New York. Toronto. McGraw-Hill. 1968. 40 p.

- Marrable, A.W. In: The embryonic pig: a chronological account. Ed. Exeter, Pitman Medical, London. 1971.
- Mathew D, Lucy M, Geisert R. Interleukins, interferons and establishment of pregnancy in pigs. *Reproduction*. 2016;151:111–122
- Murphy S, Tayade C, Ashkar A, Hatta K, Zhang J, Croy A. Interferon gamma in successful pregnancies. *Biol Reprod*, 2009. 80(5):848-859.
- Ortiz-Quintero, Blanca. Galectina-1: regulador negativo de la respuesta inmune inflamatoria y posible agente terapéutico. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*. 2009;22:(3);206-16.
- Pope, W., Embryonic mortality in swine. Embryonic mortality in domestic species. Ed. Zavy MT and Geisert RD. Boca Ratón, Fl, Estados Unidos. 1994:53-77.
- Rabinovich GA, Rubinstein N. Galectinas: Una nueva familia de proteínas involucradas en la regulación de la Respuesta Inmune. Implicancias en procesos Inmunopatológicos. *Medicina (Bs As)* 2001; 61: 85-92.
- Rashev P, Georgieva R, Rees D. Expression of alpha5beta1 integrin and fibronectin during early pregnancy in pigs. *Folia Biol Praha*. 2005;51(5):121-125.
- Sanchis EG., Cristofolini AL., Fiorimanti MR., Barbeito CG., Merkis CI. Apoptosis and cell proliferation in porcine placental Vascularization. *Animal Reproduction Science*. 2017;184:20–28
- Spencer, T.E. and F.W. Bazer. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004. 2: p. 49.
- Tirado-González I, Freitag N, Barrientos G, et al. Galectin-1 influences trophoblast immune evasion and emerges as a predictive factor for the outcome of pregnancy. 2013;19(1):43-53.
- Town SC, Patterson JL, Pereira CZ, Gourley G, Foxcroft GR. Embryonic and fetal development in a commercial dam-line genotype. *Anim Reprod Sci*. 2005; 85(3–4):301–16.
- Unverdorben L, et al. Comparative analyses on expression of galectins 1–4, 7–10 and 12 in first trimester placenta, decidua and isolated trophoblast cells in vitro. *Histol Histopathol*. 2016;31(10):1095-111.
- Vasconcellos A, Cisternas C, Paredes M. Estudio Inmunohistoquímico Comparativo del Receptor de Estrógeno en Tejido Endometrial de Ovejas Razas Texel y Araucana. *Int J Morphol*. 2014; 32(3):1120–24.
- Vélez, CL, Williamson, D., Clauzure, M., Koncurat, M., Barbeito, C. Inmunolocalización de la integrina  $\alpha 5\beta 1$ , la laminina y el colágeno tipo V en placenta porcina en diferentes etapas gestacionales. *INVET*. 2020; 21, 1–12.
- Vélez C, Barbeito C, Koncurat M.  $\alpha v\beta 3$  Integrin and fibronectin expressions and their relation to estrogen and progesterone during placentation in swine. *Biotechnic & Histochemistry*. 2018.
- Vélez C. Integrinas y su regulación por el sistema inmune durante la placentación porcina. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. 2017.
- Vélez C.; Barbeito CG; Koncurat MA. IL-1 $\beta$ , IL-2 and IL-4 concentration during porcine gestation. *Theriogenology*. 2019;128:133-39.
- Vonnahme, K.A., et al., Impacts on conceptus survival in a commercial swine herd. *J Anim Sci*. 2002;80(3):553-9.
- Williamson, D. Estudio de la presencia de integrinas, y su relación con los niveles de esteroides e interleuquinas, durante la placentación porcina. FCV, UNLP, Argentina, 2011.
- Williamson DM; Riesco OF; Barbeito CG; Koncurat MA. Perfil y rol de citoquinas en suero, homogenatos placentarios maternos y fetales a través de la gestación porcina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*. 2015;16 (8).
- Wilson, M.E., et al. Differential gene expression during elongation in the preimplantation pig embryo. *Genesis*. 2000;26(1):9-14.
- Wooding P, Burton G. Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution. Cambridge, United Kingdom, Ed. Springer. 2008;105-14.
- Xiao Q, et al. Expression of galectin-3 and apoptosis in placental villi from patients with missed abortion during early pregnancy. 2019;17(4):2623-31.