



Resolución Consejo Directivo FCV N° 404 / 2024 - FCV SCDyRRII

VISTO:

El Expediente N° 692/2024 (registro iniciado por la Facultad de Ciencias Veterinarias), caratulado: *“Presentación de un nuevo Programa de Investigación de la Dra. Delia Williamson”*, y

CONSIDERANDO:

Que por Resolución N° 100/99 y su modificatoria N° 088/2002, ambas del Consejo Superior de la Universidad Nacional de La Pampa se aprueban las definiciones y pautas para la presentación, acreditación, ejecución y seguimiento de Programas y Proyectos de Investigación.

Que el programa ha sido presentado de acuerdo con las normas vigentes y aprobado por el Comité Científico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que dicho Programa de Investigación se denomina *“Análisis de la placenta porcina: una perspectiva sobre la interacción feto-materna durante la gestación”*, bajo la dirección de la Dra. Delia María WILLIAMSON.

Que está conformado por dos (2) Proyectos de Investigación denominados: *“Características morfológicas placentarias durante la gestación porcina temprana”* y *“Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas”*.

Que el Proyecto de Investigación denominado *“Características morfológicas placentarias durante la gestación porcina temprana”* estará bajo la dirección de la Dra. Delia María WILLIAMSON, participando en carácter de investigadoras/es las/os profesionales Dra. Carolina Lucia VELEZ, Dra. Mariángeles CLAUZURE, Dr. Claudio Gustavo BARBEITO (Histología FCV-UNLP), Dr. Francisco ACUÑA (Histología II FCV-UNLP), M.V. Mariela Lorena CÁNOVAS, Esp. Alfonsina RODRIGUEZ, M.V. Mónica Graciela GARCÍA, Biol. Ángeles Gisela RAYER, Esp. Sebastián RAMOS y Esp. Yolanda Mabel MARRÓN, en carácter de asistentes de investigación la profesional Bioq. Laura Verónica GARCIA SCHANZ, profesional M.V. Kevin Nicolás ROTH y las estudiantes de Medicina Veterinaria Luz Melina DEVAUX ANTONINI y Briana Selene ETCHEVERRY.



Que el Proyecto de Investigación denominado “*Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas*” estará bajo la dirección de la M.V. Mónica Graciela GARCÍA, participando en carácter de investigadoras/es las/os profesionales Dra. Carolina Lucia VELEZ, Dra. Delia María WILLIAMSON, Dra. Mariángeles CLAUZURE, Dr. Claudio Gustavo BARBEITO (Histología FCV-UNLP), Dr. Francisco ACUÑA (Histología II FCV-UNLP), M.V. Mariela Lorena CÁNOVAS, M.V. Daniel Vicente LACOLLA, Esp. Alfonsina RODRIGUEZ, Biol. Ángeles Gisela RAYER, Esp. Sebastián RAMOS y Esp. Yolanda Mabel MARRÓN, en carácter de asistentes de investigación la profesional Bioq. Laura Verónica GARCIA SCHANZ y las estudiantes de Medicina Veterinaria Luz Melina DEVAUX ANTONINI y Briana Selene ETCHEVERRY, en carácter de personal de apoyo la nodocente Lorena FERNANDEZ.

Que ambos Proyecto de Investigación tendrán una duración de sesenta (60) meses, a partir del 01 de enero de 2025 y hasta el 31 de diciembre de 2029.

Que de acuerdo a la presentación el citado programa es de Investigación Básica.

Que participa en su desarrollo el Centro de Biología Celular y Molecular (CeBioCem) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que el Artículo 5° Anexo I de la Resolución N° 100/99 y su modificatoria N° 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 tres (3) evaluaciones externas satisfactorias.

Que las evaluaciones fueron realizadas por la Dra. Carolina Natalia ZANUZZI (UNLP), la Prof. Andrea BOZZO (UNRC) y la Dra. Mariana WOULDWYK (UNLP).

Que en Sesión Ordinaria del Consejo Directivo del día 19 de diciembre de 2024, puesto el Programa de Investigación a consideración de los/as Sres/as. Consejeros/as, se aprueba por unanimidad.

POR ELLO:

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

R E S U E L V E:



ARTICULO 1º: Acreditar como Programa de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa el programa denominado “*Análisis de la placenta porcina: una perspectiva sobre la interacción feto-materna durante la gestación*”, bajo la dirección de la Dra. Delia María WILLIAMSON, que está conformado por dos Proyectos de Investigación denominados: “*Características morfológicas placentarias durante la gestación porcina temprana*” y “*Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas*”, el cual tiene cuarenta y tres (43) folios y consta en el Anexo de la presente Resolución.

ARTICULO 2º: El Proyecto de Investigación denominado “*Características morfológicas placentarias durante la gestación porcina temprana*” estará bajo la dirección de la Dra. Delia María WILLIAMSON, participando en carácter de investigadoras/es las/os profesionales Dra. Carolina Lucia VELEZ, Dra. Mariángeles CLAUZURE, Dr. Claudio Gustavo BARBEITO (Histología FCV-UNLP), Dr. Francisco ACUÑA (Histología II FCV-UNLP), M.V. Mariela Lorena CÁNOVAS, Esp. Alfonsina RODRIGUEZ, M.V. Mónica Graciela GARCÍA, Biol. Ángeles Gisela RAYER, Esp. Sebastián RAMOS y Esp. Yolanda Mabel MARRÓN, en carácter de asistentes de investigación la profesional Bioq. Laura Verónica GARCIA SCHANZ, profesional M.V. Kevin Nicolás ROTH y las estudiantes de Medicina Veterinaria Luz Melina DEVAUX ANTONINI y Briana Selene ETCHEVERRY.

ARTICULO 3º: El Proyecto de Investigación denominado “*Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas*” estará bajo la dirección de la M.V. Mónica Graciela GARCÍA, participando en carácter de investigadoras/es las/os profesionales Dra. Carolina Lucia VELEZ, Dra. Delia María WILLIAMSON, Dra. Mariángeles CLAUZURE, Dr. Claudio Gustavo BARBEITO (Histología FCV-UNLP), Dr. Francisco ACUÑA (Histología II FCV-UNLP), M.V. Mariela Lorena CÁNOVAS, M.V. Daniel Vicente LACOLLA, Esp. Alfonsina RODRIGUEZ, Biol. Ángeles Gisela RAYER, Esp. Sebastián RAMOS y Esp. Yolanda Mabel MARRÓN, en carácter de asistentes de investigación la profesional Bioq. Laura Verónica GARCIA SCHANZ y las estudiantes de Medicina Veterinaria Luz Melina DEVAUX ANTONINI y Briana Selene ETCHEVERRY, en carácter de personal de apoyo la nodocente Lorena FERNANDEZ.

ARTICULO 4º: El Programa de Investigación tendrá una duración de sesenta (60) meses, a partir del 01 de enero de 2025 y hasta el 31 de diciembre de 2029.

ARTICULO 5º: Regístrese, comuníquese. Tomen conocimiento los/as interesados/as, Secretaría de Investigación y Posgrado de la Unidad Académica, Dra. Delia Williamson. Cumplido, archívese.



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa
50° Aniversario 1974 -2024

2024

50º Aniversario de la creación de las Facultades
de Cs. Exactas y Naturales y de Cs. Veterinarias
30º Aniversario de la consagración constitucional
de la autonomía universitaria

Dr. Abelardo Ferrán
Presidente del Consejo Directivo
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Pampa

Corresponde a Resolución N° 404/2024

ANEXO



Facultad de Ciencias Veterinarias

PROGRAMA de INVESTIGACIÓN

“Análisis de la placenta porcina: una perspectiva sobre la interacción feto-materna durante la gestación”

Directora: Dra. Williamson Delia María

Resumen del programa: La gestación porcina dura aproximadamente 114 días y es un fenómeno fisiológico que obedece a precisas interacciones entre el *conceptus* y su madre, las cuales se van a llevar a cabo mediante el desarrollo de una placenta de tipo epiteliocorial, donde las comunicaciones moleculares entre ambos individuos cumplen un rol vital en el mantenimiento de la gestación. Aún no se conocen por completo las moléculas que participan en el desarrollo placentario que conducen a una gestación exitosa. Es necesario profundizar las investigaciones acerca de ciertos aspectos de la reproducción porcina que se relacionan con características placentarias en distintos períodos de gestación y su relación con la nutrición histotrófica, ya que los cambios en el ambiente uterino influirían en el desarrollo y la viabilidad de los embriones/fetos. Además, en el contacto entre el *conceptus* y la madre participan moléculas de adhesión y antiadhesivas que deberán expresarse coordinadamente en tiempo y localización. Por ello, nos proponemos identificar los carbohidratos del glicocáliz en los tejidos maternos y fetales de las placentas porcinas en distintos períodos de gestación. Esta expresión junto a características morfométricas placentarias estarían relacionadas con los parámetros morfológicos embrionarios/fetales necesarios para posibilitar una gestación a término.

Resumen del proyecto “Características morfométricas placentarias durante la gestación porcina temprana”:

La gestación porcina dura aproximadamente 114 días y es un fenómeno fisiológico que obedece a precisas interacciones entre el *conceptus* y su madre, las cuales se van a llevar a cabo mediante el desarrollo de la placenta. La placenta porcina es epiteliocorial, difusa incompleta, adecidua, plegada y no invasiva. La cerda posee un elevado índice de pérdida embrionaria/fetal. Aún no se conocen por completo los mecanismos que permiten una gestación exitosa. Los cambios en el ambiente uterino influirían en el desarrollo y la viabilidad de los embriones/fetos. Es necesario profundizar las investigaciones acerca de ciertos aspectos de la reproducción porcina que se relacionan con características placentarias de los embriones/fetos en distintos períodos de gestación y su relación con la nutrición histotrófica. Las características morfométricas

Corresponde a Resolución N° 404/2024

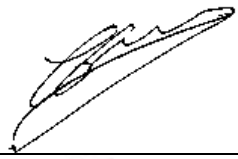
placentarias estarían relacionadas con los parámetros morfológicos embrionarios/fetales necesarios para llevar a cabo una preñez porcina exitosa.

Resumen del proyecto “Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas”:

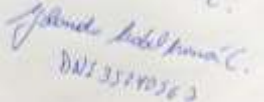
La placenta es un órgano temporario en donde ocurren interacciones moleculares entre el *conceptus* y la madre, y cumplen un rol vital en el mantenimiento de la gestación. En este contacto participan moléculas de adhesión y antiadhesivas que deberán expresarse coordinadamente en tiempo y localización. En muchas células eucariotas animales, cadenas de oligosacáridos específicas unidas a los componentes de la membrana plasmática junto a glicoconjugados adsorbidos en la superficie, forman parte del glicocáliz, una superficie rica en información que la célula expone a su entorno. Esas cadenas de carbohidratos interactúan con la matriz extracelular, jugando un papel en el reconocimiento y la adhesión célula-célula, la migración celular durante el desarrollo y la respuesta inmunitaria, entre otros procesos celulares. En la mayor parte de estos casos, el glúcido portador de la información está unido covalentemente a una proteína o a un lípido para formar un glicoconjugado, que es la molécula biológicamente activa. En el cerdo se desarrolla una placenta de tipo epiteliocorial, plegada y no invasiva; considerando que muchas de las moléculas involucradas en la interacción feto-materna son glicoconjugados, proponemos identificar los carbohidratos del glicocalix en los tejidos maternos y fetales de las placentas porcinas en distintos períodos de gestación.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

Título proyecto: “Características morfométricas placentarias durante la gestación porcina temprana”

Integrantes	Firma
Williamson Delia María	
Vélez Carolina Lucía	
Clauzure Mariángeles	
Barbeito Claudio Gustavo	
Acuña Francisco	
Cánovas Mariela Lorena	
Rodríguez Alfonsina	
García Mónica Graciela	
Rayer Ángeles Gisela	

Corresponde a Resolución N° 404/2024

García Schanz Laura Verónica	
Ramos Sebastián	
Devaux Antonini Luz Melina	
Etcheverry Briana Selene	
Yolanda Mabel Marrón	
Roth Kevin Nicolás	

Corresponde a Resolución N° 404/2024



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA
Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO: Características morfométricas placentarias durante la gestación porcina temprana.

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Básica

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: Centro de Biología Celular y Molecular. Facultad Ciencias Veterinarias-UNLPam.

2.2. OTRAS INSTITUCIONES:

2.3. EQUIPO de TRABAJO

2.3.1 . INTEGRANTES

Apellido y Nombre	CUIL	Título Académico	Categoría Investigación	Responsabilidad	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicación hs./semana
Williamson, Delia María	27-24499522/0	Dra	III	D	Centro Biología Celular y Molecular Biología Celular	Directora CeBioCeM Prof Adj Exclusiva	5 hs
Velez, Carolina Lucía	27-28485826/9	Dra	V	I	Histología II	JTP Semiexclusiva	5 hs

Corresponde a Resolución N° 404/2024

Clauzure, Mariangeles	27- 30782086/8	Dra	-	I	Biología General Genética Animal	Ayud. 1ra Simple	5 hs
Barbeito, Claudio Gustavo	20- 14922728/9	Dr	I	I	Histología FCV- UNLP	Prof Titular Exclusivo	5 hs
Acuña, Francisco	20- 34170751-0	Dr	IV	I	Histología II FCV- UNLP	JTP simple	5 hs
Cánovas, Mariela Lorena	27- 36963409/2	MV	-	I	Histología II	Ayud. 1ra Semiexclusi vo	5 hs
Rodríguez, Alfonsina	27- 33985183/8	Esp	-	I	Histología II	Ayud 1ra Simple	5 hs
García, Mónica Graciela	27- 13213398/6	MV	V	I	Histología II	Prof Adj Exclusiva	5 hs
Rayer, Ángeles Gisela	27- 31841250/8	Biol	-	I	CeBioCe M	Adscripta	5 hs
García Schanz, Laura Verónica	27- 31625620/7	Bioq	-	AI	CeBioCe M	Adscripta	5 hs
Ramos, Sebastián	20- 31486758/1	Esp	-	I	Prod. Porcina	JTP, Semiexclusi vo	5 hs
Devaux Antonini, Luz Melina	20- 43372726/7	Estudiante	-	AI	Histología II	Adscripta	5 hs
Etcheverry, Briana Selene	27- 42234684/3	Estudiante	-	AI	Histología II	Adscripta	5 hs
Marrón, Yolanda Mabel	27- 35240567/7	Bioq-MV	-	I	Química Biológica	JTP, Exclusivo	5 hs
Roth, Kevin Nicolás	20- 40612049/0	MV	-	AI	Profesiona l Externo		2 hs

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

2.3.1. 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.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

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

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 5 años

3.1. FECHA de INICIO: 01/01/25

FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/29

4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)

La gestación porcina dura aproximadamente 114 días y es un fenómeno fisiológico que obedece a precisas interacciones entre el conceptus y su madre, las cuales se van a llevar a cabo mediante el desarrollo de la placenta. La placenta porcina es epiteliocorial, difusa incompleta, *adecidua*, plegada y no invasiva. La cerda posee un elevado índice de pérdida embrionaria/fetal. Aún no se conocen por completo los mecanismos que permiten una gestación exitosa. Los cambios en el ambiente uterino influirían en el desarrollo y la viabilidad de los embriones/fetos. Es necesario profundizar las investigaciones acerca de ciertos aspectos de la reproducción porcina que se relacionan con características placentarias de los embriones/fetos en distintos períodos de gestación y su relación con la nutrición histotrófica. Las características morfométricas placentarias estarían relacionadas con los parámetros morfológicos embrionarios/fetales necesarios para llevar a cabo una preñez porcina exitosa.

4.1 Palabras claves: glándula endometrial, histiotrófo, placenta, gestación, porcino

4.2 Abstract en inglés: (Máximo 200 palabras)

Porcine gestation lasts approximately 114 days and is a physiological phenomenon due to precise interactions between the conceptus and its mother, which are carried out through the development of the placenta. The porcine placenta is epitheliochorial, diffuse incomplete, *adeciduate*, folded, and non-invasive. Sows have a high rate of embryonic/fetal loss. The mechanisms that enable a successful gestation are not yet fully understood. Changes in the uterine environment could influence the development and viability of embryos/fetuses. Further research is needed on certain aspects of swine reproduction related to placental characteristics of embryos/fetuses at different gestational periods and their relationship with histotrophic nutrition. Placental morphometric characteristics may be related to the embryonic/fetal morphological parameters necessary to achieve a successful porcine pregnancy.

4.3. Keywords: endometrial gland, histiotroph, placenta, gestation, porcine

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. Introducción

La gestación porcina dura aproximadamente 114 días y es un fenómeno fisiológico que obedece a precisas interacciones entre el *conceptus* y su madre, las cuales se van a llevar a cabo mediante el desarrollo de la placenta. La placenta porcina es epiteliocorial, difusa incompleta, *adecidua*, plegada y no invasiva (Cristofolini y col, 2013). Antes del establecimiento de la placenta, hay un

Corresponde a Resolución N° 404/2024

largo período de peri implantación donde se produce la migración de los *conceptus*, la separación de los mismos en la cavidad uterina y su elongación entre los días 4 a 12 post fertilización. El potencial de fertilidad anual de una cerda reproductora está impulsado por una tasa de ovulación de 44 a 60 ovocitos; sin embargo, debido principalmente a la mortalidad embrionaria y fetal, se pierden del 30 al 40% de los embriones, por lo que lleva a la producción de 30 a 36 lechones nacidos vivos/cerda/año (Małopolska et al, 2021). Con un 10% adicional de tasa de mortalidad de lechones antes del destete, la productividad porcina se deteriora aún más, lo que lleva a un total de 24 a 30 lechones/destetados/cerda/año. Según diferentes fuentes, sólo el 5-10% de los ovocitos en cerdas gestantes no son fertilizados o los primeros cigotos no logran escindirse y sufren prematuramente apoptosis al día 11 de gestación (11 dg) (Jamil et al, 2017, Malopolska et al, 2021). A los 20 y 50 dg, el porcentaje de muerte y reabsorción de embriones/*conceptus* es 12-30% y 3-15%, respectivamente (Jamil et al, 2017, Malopolska et al, 2021). Por último, la proporción de fetos momificados y lechones nacidos muertos en el parto (es decir, fetos perdidos entre 50 y 114 dg) es aproximadamente 1-15% (Malopolska et al, 2021). La pérdida de embriones/*conceptus* entre los días 11 y 50 de preñez dificulta la productividad neta de lechones (Liu et al, 2020). Una de las “barreras” más importantes que resultan en las pérdidas de embriones en cerdos parece estar relacionada con la limitación en espacio y recursos uterinos, lo que reduce el potencial de implantación y desarrollo fetal (Geisert et al, 2002). Estudios previos también han sugerido que numerosas sustancias biológicamente activas producidas por el útero, la placenta y los fetos pueden contribuir al número de descendientes que los animales pueden llevar a término (Kridli et al, 2016; Jamil et al, 2017; Maloposka et al, 2021). En consecuencia se ha reportado que, independientemente del tamaño uterino, hay otros factores que podrían contribuir al tamaño de la camada (Vallet JL, 2000). Ha sido reportado que la remodelación del tejido endometrial mediada por el *conceptus* durante la gestación involucra adenogénesis y aumento del desarrollo vascular apoyando tanto la nutrición histotrófica como la hemotrófica (Małopolska et al, 2021).

El proceso de morfogénesis uterina está gobernado por una variedad de mecanismos endocrinos, celulares y moleculares, pero muchos de los detalles aún están por definirse. Los mecanismos que regulan la adenogénesis endometrial son poco claros. Basados en mecanismos regulatorios que rigen al desarrollo de glándulas en el útero y a otros órganos con glándulas de epitelio mesenquimal; se propone que la adenogénesis uterina involucra alteraciones específicas en el sitio de formación como el movimiento celular con interacciones célula-célula e interacciones célula-matriz extracelular, que es regulado por mecanismos endocrinos, paracrinós y yuxtacrinós (Gray et al, 2001).

La evidencia más reciente en genotipos modernos de cerdas demuestra que alrededor del 40% de los embriones no sobreviven hasta el día 35, y que dos tercios de las pérdidas ocurren antes del día 21 de gestación en cerdas multíparas que ovulan más de 20 ovocitos (Langendijk et al, 2016). Al incluir un grupo de cerdas con ligadura unilateral del oviducto para proporcionar más espacio por embrión, se demostró que la cantidad de pérdidas antes del día 21 era independiente del espacio. Tanto en las cerdas intactas como en el modelo de ligadura unilateral de oviductos, el 25% de los embriones se perdieron el día 21. Sin embargo, no hubo pérdidas de embriones después del día 21 en el modelo de ligadura de oviducto unilateral, donde los embriones tenían amplio espacio, mientras que otro 17% de los embriones se perdieron después del día 21 en las cerdas intactas (Langendijk et al, 2016; Langendijk, 2021). También fue evidente la longitud de los sitios de implantación y el peso del embrión, que fueron un 22% y un 14% mayores en el modelo de ligadura de oviducto unilateral en comparación con el modelo intacto de las cerdas. Esto sugiere que durante o después de la implantación, la competencia entre embriones por el espacio produce mortalidad o desarrollo reducido de aquellos embriones con espacio insuficiente (Langendijk et al, 2016). En conjunto, esto demuestra que la mayoría (2/3) de las pérdidas

Corresponde a Resolución N° 404/2024

embrionarias ocurren entre días 12 y 21, alrededor del momento de la implantación, y no están relacionados con la capacidad uterina. Un tercio de las pérdidas de embriones ocurren después del día 21 y parecen deberse a las limitaciones de la capacidad uterina (Langendijk, 2021). Los embriones en la fase previa a la implantación no pueden depender del suministro de nutrientes a través de la placenta, las señales nutricionales y de desarrollo deben transferirse a través de los fluidos uterinos secretados por las glándulas endometriales (nutrición histotrofa). Los cambios en las concentraciones de leucina, arginina, glutamina, glucosa y fructosa en los fluidos uterino y trofoblástico en el período de blastocisto y durante el desarrollo y la elongación del trofoblasto, sugieren que estas moléculas pueden actuar como nutrientes funcionales para el desarrollo embrionario temprano (Langendijk, 2021). La secreción de estos nutrientes funcionales y la expresión de sus transportadores están regulados por la progesterona (P4) y el estradiol (Gray et al, 2001). Durante la etapa de preimplantación y elongación de los *conceptuses* entre los 17 a 20 días, las concentraciones de estrógenos (Es) en el componente placentario fetal son más altas que en los extractos placentarios maternos y que en suero (Franczak y Kotwica, 2008; Yaful, 2009; Williamson, 2011). Estos datos reafirman la capacidad de sintetizar estrógenos del trofoblasto durante el período de elongación (Bazer y Johnson, 2014; Ziecik et al, 2017; Meyer et al, 2019). Los estrógenos en esta etapa de la gestación, según la hipótesis propuesta por Bazer y Thatcher (1977) son esenciales para el reconocimiento materno de la preñez, e impedir la regresión del CL, por modificar la secreción de PGF2 α hacia el lumen uterino. En los extractos maternos a los 30 dg se obtuvieron concentraciones de Es que se incrementaron en las etapas estudiadas a medida que se desarrolla la preñez, sin embargo, los valores fueron claramente inferiores a los encontrados en extractos placentarios fetales provenientes de 17, 30 y 70 dg ((Williamson et al, 2008; Yaful, 2009; Williamson, 2011; Viglierchio y col, 2017). Esos estudios sugieren que la presencia de Es es importante durante toda la gestación (Williamson, 2011), más allá del período de implantación, estos resultados coinciden con lo propuesto por Bazer y Thatcher en 1977 y por Whyte et al. en 2018. Yaful (2009) detectó aumento de P4 en suero a los 15-20 dg, durante el período de implantación. Mientras que Knight y Kukoly (1990) observaron que la concentración de P4 placentaria en cultivos placentarios in vitro aumenta linealmente entre los 25 y los 40 días, pero estos autores no especifican el componente placentario fetal o materno que la sintetiza. En contraste, Yaful y col. (2005) determinaron en los extractos placentarios fetales, durante el período de postimplantación, altas concentraciones de P4, y sugirieron que la placenta fetal es una fuente alternativa de producción de P4 durante la preñez porcina. Yaful (2009) sugiere que además de la regulación sistémica promovida por la P4 y los Es, existe una regulación paracrina por parte de estas dos hormonas sobre las glándulas uterinas, ya que se encontraron variaciones significativas en las concentraciones placentarias fetales y maternas; por lo que se postula que dicha acción local se debería principalmente al componente de origen fetal debido a su marcada actividad de esteroideogénesis.

Según Kriddli et al, 2016, los pliegues epiteliales uterinos mantienen al *conceptus* en su lugar ya alrededor de los 13-14 dg. En este momento, el trofoblasto está parcialmente separado del epitelio uterino por la leche uterina. Las membranas trofoblásticas y uterinas se acercan permitiendo que las microvellosidades interdigitadas se desarrollen entre las cúpulas apicales del epitelio uterino y el trofoblasto que cubre toda la placenta excepto las aberturas de las glándulas uterinas (areolas). Tal asociación permite un cambio de nutrición principalmente de histotrófica a hemotrófica entre los 15-20 dg. La placenta de cada lechón en una camada tiene aproximadamente 2500 areolas, y ese número está correlacionado con el peso fetal. Las areolas se forman entre los días 25 y 30 de la preñez sobre las aberturas de las glándulas uterinas y el número de areolas es mayor para el día 70 de gestación (Spencer et al, 2019). Según Johnson et al. (2022), la interfaz entre el útero y la placenta de los cerdos comienza a plegarse entre los días 20-25 de preñez, y estos primeros pliegues aumentan de longitud hasta el día 35 de gestación. Además de tener el trofoblasto

Corresponde a Resolución N° 404/2024

estrechamente anexado al epitelio luminal uterino cilíndrico simple (EL), hay células epiteliales especializadas del trofoblasto de las areolas en las aberturas de las bocas de las glándulas uterinas. Estas son células columnares altas que tienen numerosas vacuolas que contienen las secreciones de las glándulas uterinas (histótrofes). De hecho, el espacio abierto entre el trofoblasto y EL está lleno de histótrofes. La irrigación sanguínea de los pliegues de la pared de areolas forma un anillo hacia la periferia, y los capilares areolares convergen en una o dos venas madre, lo que indica que se facilita la entrada externa de sangre en la areola y su salida de manera diferente a la de las regiones interareolares de la placenta (Johnson et al, 2022). Esta disposición permite que las areolas transporten secreciones glandulares como macromoléculas, particularmente proteínas como la uteroferrina, por fase fluida (pinocitosis) a través de la placenta y en la circulación feto-placentaria (Johnson et al, 2022).

Existe una correlación significativa entre el peso húmedo fetal y la longitud placentaria, la superficie placentaria y la superficie areolar total por placenta (Knight et al, 1977). Las glándulas uterinas (GU) de las cerdas adultas no gestantes están revestidas por un epitelio cúbico bajo que muestra pocas adaptaciones para indicar alta actividad secretora. Sin embargo, el epitelio glandular (EG) de cerdas con 17 días de gestación, aunque permanece cúbico bajo, las células incrementan el volumen del retículo endoplásmico rugoso y el complejo de Golgi, lo que sugiere síntesis de productos secretores. Las GU siguen siendo simples, enrolladas y tubulares hasta el día 30 de preñez, pero desarrollan características de aumento de la actividad secretora en el día 35, cuando las células del EG exhiben un extenso retículo endoplasmático rugoso con cisternas llenas de floculante. A mitad de la gestación, los lumenes de las glándulas uterinas están muy agrandados y llenos de secreciones (Spencer et al, 2019); lo que nos llama la atención que estaría siendo relevante también la nutrición histiotrófica además de la hemotrófica en esta especie.

Se cree que las secreciones uterinas son particularmente importantes para la supervivencia y el desarrollo de los embriones en ovinos, bovinos, cerdos y caballos, en los que un período prolongado de preimplantación en el desarrollo del *conceptus*, precede a la adhesión superficial y posterior placentación. Consecuencias de la inducción de esteroides, alterando el desarrollo uterino neonatal, evaluados en términos de estructura y función del endometrio adulto, así como la supervivencia del *conceptus* ilustran la importancia tanto del éxito del desarrollo uterino como de la integridad del endometrio funcional en ungulados domésticos.

La proliferación celular es el incremento del número de células por división celular. Es característica de cada tipo celular por lo que está controlada de forma muy específica. Asimismo, cada tipo celular posee una serie de receptores de factores de crecimiento característicos que también regulan la proliferación al controlar la respuesta a tales factores (Korgun et al, 2006). El control de la proliferación celular implica un delicado equilibrio entre los efectos de diferentes moléculas reguladoras, incluyendo hormonas y factores de crecimiento que proporcionan, en el entorno inmediato de la célula, señales para estimular o inhibir la replicación del ADN y la división celular (Gilbert, 2010).

Boos et. al, (2003) en placentas bovinas demostraron, a través de estudios histoquímicos, que tanto la proliferación como la muerte celular por apoptosis exhiben en la placenta patrones que son específicos para cada etapa de la gestación, así como para los tipos individuales de células. La proliferación juega un papel importante en el crecimiento de la placenta y junto con la apoptosis, en la remodelación tisular necesario para la nutrición histotrófica del feto (Hoffmann y Schuler, 2002), indispensable para la regulación del intercambio materno/fetal que permite un adecuado balance que asegure una preñez exitosa porcina (Merkis y col, 2007).

El peso placentario y la funcionalidad placentaria puede influir en la capacidad uterina. La eficiencia placentaria para un *conceptus* dado se ha definido como el peso del feto dividido por el peso de la placenta y se interpreta que indica los gramos de feto que puede ser soportado por gramo de una placenta determinada. El cálculo de la eficiencia placentaria supone que para todos

Corresponde a Resolución N° 404/2024

los *conceptus*, el peso del feto está controlado principalmente por la disponibilidad de nutrientes de la placenta.

Es probable que las placentas de más de 200 g puedan transferir más nutrientes que los que necesita el feto en desarrollo. El aumento y la variación en el peso fetal a medida que aumenta el peso placentario puede ser debido a la creciente influencia de los genes fetales o del entorno externo. Está claro que cuando el peso de la placenta es bajo y el soporte placentario es limitante; para cualquier peso placentario determinado, los pesos fetales difieren. Cuando las limitaciones del espacio uterino fueron más moderadas, una disminución del 20% en la supervivencia de los *conceptus* entre el día 29 y el día 35 de la preñez fue evidente (Vallet, 2000).

Debido a los antecedentes mencionados, se analizarán parámetros morfométricos de los embriones/fetos y su placenta en diferentes etapas de la gestación. En la cerda, en ciertos periodos de la gestación, se generan remodelaciones en la arquitectura placentaria a modo de establecer la placenta y así promover una correcta nutrición y una gestación a término. Conocer dichos parámetros podría dilucidar las posibles causas que provocan las numerosas pérdidas embrionarias/fetales que ocurren en esta especie de gran interés pecuario.

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:

- ✓ Progesterona, Estrógenos y Expresión de Integrinas en la Gestación Temprana Porcina. Williamson D; Yaful G; Riesco O; Konkurat M. Ciencia Veterinaria. UNLPam. 2008 vol. N°. p13 - 22. ISSN 1515-1883.
- ✓ Expresión de la Integrina $\alpha\beta3$ y de las Subunidades de las Integrinas $\alpha3$ y $\beta1$ Durante la Placentación Porcina. Williamson D; Konkurat M.. InVet.: UBA. 2009 vol. N°. p31 - 37. ISSN 1514-6634.
- ✓ Determinación de la Concentración de IFN-g, IL-6, IL-12, IL-15 e IL-18 en Suero, Extractos Placentarios Maternos y Fetales a Través de la Gestación Porcina. Williamson D; Riesco O; Velez C; Konkurat M. Ciencia Veterinaria. UNLPam. 2011 vol. N°. p30 - 41. ISSN 1515-1883.
- ✓ Detección de Fibronectina Durante la Placentación Porcina. Velez C; Williamson D; Konkurat M. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 2014 vol.22 N°1/2. p31 - 36. ISSN 1022-1301.
- ✓ Perfil y Rol de Citoquinas en Suero, Homogenatos Placentarios Maternos y Fetales a Través de la Gestación Porcina. Williamson D; Riesco O; Barbeito C; Konkurat M. REDVET. 2015 vol.16 N°8. p1 - 14. ISSN 1695-7504.
- ✓ Concentración de Interleuquina 1- β durante la placentación porcina. Velez C, Clauzure M, Williamson D, Barbeito C, Santa Coloma T y Konkurat M. Ciencia Veterinaria. 2018. Vol 20 n° 1. p13-24. ISSN 1515-1883.
- ✓ Inmunolocalización de la integrina $\alpha5\beta1$, la laminina y el colágeno tipo v en placenta porcina en diferentes etapas gestacionales. Vélez, CL; Williamson, DM; Clauzure, M; Konkurat, MA; Barbeito, CG. InVet. 2019. Vol 21 (2): p1-12. ISSN 1514-6634 (impreso)
ISSN 1668-3498 (en línea).
- ✓ IL-1 β , IL-2 and IL-4 concentration during porcine gestation. Velez C, Clauzure M, Williamson D, Konkurat M, Santa Coloma T and Barbeito C. Theriogenology. 2019. Vol 128. P 133-139. ISSN: 0093-691X.
- ✓ Expresión de citoquinas durante la gestación porcina. Gai L R, Williamson D M, Vélez C L, Clauzure M. Ciencia Veterinaria. 2022. Vol 24 n° 2. P171-190. ISSN 1515-1883.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- ✓ Are integrins and ligands correlated at pig placental interface during pregnancy? Velez C, Clauzure M, Williamson D, Garcia M, Konkurat M and Barbeito C. *Reproduction and Fertility*. 2023. Vol 4 N° 1. P1-13. e 220079. Doi: <https://raf.bioscientifica.com/view/journals/raf/4/1/RAF-22-0079.xml>
- ✓ IFN- γ and IL-10: seric and placental profile during pig gestation Seric and placental cytokines in pig gestation. Vélez Carolina, Clauzure Mariángeles, Williamson Delia, Konkurat Mirta A. & Barbeito Claudio. *An Acad Bras Cienc* (2023) 95(1): e20201160 DOI 10.1590/0001-3765202320201160
- ✓ Changes in Immune Response during Pig Gestation with a Focus on Cytokines. Velez, C.; Williamson, D.; Cánovas, M.L.; Giai, L.R.; Rutland, C.; Pérez, W.; Barbeito, C.G.. *Vet. Sci*. 2024, 11, 50. <https://doi.org/10.3390/vetsci11010050>

Trabajos presentados en congresos y jornadas.

- ✓ Estudio Preliminar de la Expresión de la Subunidad $\beta 1$ de las Integrinas Durante la Placentación Porcina. Williamson, D; Konkurat, M. *Memorias*. 2005. XXII Jornadas Científicas de la Asociación de Biología de Tucumán. Asociación de Biología de Tucumán.
- ✓ Estudio de la Expresión de la Integrina $\alpha \beta 3$ y de la Subunidad $\beta 1$ Durante la Placentación Porcina. Williamson D; Konkurat M. Argentina. Rio Cuarto. 2006. V Congreso de Producción Porcina del MERCOSUR. Universidad Nacional de Rio Cuarto. ISBN-10: 950-665-394-1
- ✓ Expression of $\beta 1$ and $\alpha 3$ Integrins Subunits During Porcine Gestation. Williamson, D; Konkurat, M. *Memorias*. 2006. XXIV Reunión Científica Anual de la Sociedad de Biología de Cuyo IV Reunión Científica de la Sociedad Argentina de Microscopia. Sociedad de Biología de Cuyo.
- ✓ Detección de la Subunidad $\alpha 3$ de las Integrinas durante la Placentación Porcina. Williamson, D; Konkurat, M. *Memorias*. 2006. XXIII Jornadas Científicas Asociación de Biología de Tucumán. Sociedad de Biología de Tucumán.
- ✓ Expresión de la Subunidad $\beta 3$ de las Integrinas Durante la Placentación Porcina. Williamson, Delia; Alonso, Gabriela; Hernandez, Mabel; Konkurat, Mirta. *Memorias*. 2007. I Reunión Conjunta de Sociedades de Biología de la Republica Argentina. Sociedades de Biología.
- ✓ Estrogens, Progesterone and Integrins During Porcine Placentation. Williamson, D; Riesco, O; Alonso, G; Hernandez, M; Moschetti, E; Konkurat, M. *Memorias*. 2007. Simposio. III Latin-American Symposium on Maternal-Fetal Interaction and Placenta: Basic & Clinical Research. Universidad Nacional de Córdoba.
- ✓ Concentración de Progesterona y Expresión de las Integrinas $\alpha \beta 3$, $\beta 1$ y $\beta 3$ Durante la Placentación Porcina. Williamson D; Yaful G; Riesco O; Konkurat M. Perú. Cuzco. 2007. Revista. Artículo Completo. XX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). ALPA, APPA.
- ✓ Estudio Comparativo de Radioinmunoanálisis y Quimioluminiscencia en la Determinación de Progesterona en Sueros y Homogenatos Placentarios Maternos y Fetales Porcinos. Riesco, Oscar; Yaful, Graciela; Williamson, Delia; Konkurat, Mirta. *Memorias*. 2008. Congreso. XI Congreso Argentino de Ciencias Morfológicas, I Congreso Internacional de Educación e Investigación en Ciencias Morfológicas I Encuentro de Histotecnólogos. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.
- ✓ Expresión de la Integrina $\alpha \beta 3$ y de las subunidades $\alpha 3$ y $\beta 1$ en la Placentación Porcina. Williamson, Delia; Konkurat, Mirta. *Memorias del IX Congreso Nacional de Producción Porcina, XV Jornadas de Actualización*. 2008. Artículo Breve. Congreso. IX Congreso Nacional de Producción Porcina, XV Jornadas de Actualización Porcina. Universidad Nacional de Rio Cuarto. ISBN 978-950-665-475-7

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- ✓ Expresión de la Subunidad $\beta 1$ de las Integrinas Durante la Gestación Temprana Porcina. Williamson D; Clauzure M; Konkurat M. Argentina. Santa Rosa. 2009. 6 Jornada de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional de La Pampa-Facultad Ciencias Veterinarias.
- ✓ Detección de la Integrina $\alpha v \beta 3$ Durante la Placentación Porcina. Argentina. Konkurat M; Viglierchio M; Hernandez M; Williamson D. Trelew. 2009. I Jornadas Patagónicas de Biología y III Jornadas Estudiantiles de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. ISBN 978-987-1591-16-9.
- ✓ 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; Velez C; Konkurat M. Argentina. Río Cuarto. 2010. X° Congreso Nacional de Producción Porcina. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN 978-950-665-616-4
- ✓ Expresión de Integrinas y Concentración de Progesterona y Estrógenos Durante la Preñez Porcina. Williamson D; Riesco O; Velez C; Konkurat M. Argentina. Santa Rosa. 2011. VII Jornada de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional de La Pampa. ISSN 1853-9750.
- ✓ Regulación de la Placentación Porcina por Progesterona, Moléculas de Adhesión y el Sistema Inmunológico. Konkurat M; Yaful G; Williamson D; Garro A; Viglierchio M; García M; Hernandez M; Riesco O; Riesco S; Witt S; Lacolla D; Bruni M; Velez C; Gelada M. Argentina. Santa Rosa. 2012. Jornadas Ciencia y Técnica 2012. UNLPam.
- ✓ Estudio de Moléculas de Adhesión que Participan en la Placentación Porcina. Williamson D; Konkurat M; Garro A; Viglierchio M; García M; Hernandez M; Riesco O; Velez C. Argentina. Santa Rosa. 2012. E-Book. Jornada Ciencia y Técnica 2012. UNLPam. ISBN 978-950-863-178-7
- ✓ Interrelación de Progesterona, Estrógenos e IL-15 Durante la Preñez Porcina Temprana. Konkurat M; Williamson D; Yaful G. Argentina. Buenos Aires. 2012. LVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, LX Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología. SAIC y SAI.
- ✓ Expresión de Fibronectina en la Placenta Porcina. Argentina. Velez C; Williamson D; Sampedro F; García M; Hernandez M; Konkurat M. La Plata. 2013. XV Congreso Sociedad Ciencias Morfológicas, 12 Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. ISBN 978-987-26182-2-3
- ✓ Estudio de Moléculas de Adhesión que Participan en la Placentación Porcina. Konkurat M; Williamson D; Bruni M; García M; Garro A; Gelada M; Hernandez M; Martin P; Riesco O; Salas C; Sampedro F; Velez C; Viglierchio M. Argentina. Santa Rosa. 2014. Jornadas de Ciencia y Técnica 2014.
- ✓ Placentación Porcina. Konkurat, M; Bruni M; García M; Garro A; Hernandez M; Lacolla D; Riesco O; Velez C; Viglierchio M; Williamson D. Argentina. Santa Rosa. 2014. Jornadas de Ciencia y Técnica 2014.
- ✓ Expresión de Integrinas $\alpha v \beta 3$ y Fibronectina en Interfase Placentaria Porcina. Velez C; Williamson, Delia; Sampedro F; Martin P; García M; Konkurat M. Argentina. La Plata. 2014. XVI Congreso y 13° Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas La Plata. Sociedad Cs Morfológicas La Plata.
- ✓ Estrógenos y Expresión de la Integrina $\alpha v \beta 3$ y Fibronectina en la Interfase Feto-Placentaria durante la Gestación. Velez C; Williamson D; Martin P; Konkurat M. Argentina. Río Cuarto. 2014. VII Congreso de Producción Porcina del Mercosur. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN 978-987-688-071-8
- ✓ Determinación de IL-1b E IL-10 Durante la Gestación Porcina. Velez C; Williamson D; García M; Konkurat M. Argentina. Río Cuarto. 2016. VIII Congreso de Producción Porcina del Mercosur. ISBN: 978-987-688-177-7.
- ✓ Estudio De Moléculas De Adhesión Que Participan En La Placentación Porcina. Konkurat M; Williamson D; Bruni M; García M; Garro A; Gelada M; Hernandez M; Martin P; Riesco O; Salas

Corresponde a Resolución N° 404/2024

C; Sampedro F; Velez C; Viglierchio M; Alderete S; Rodriguez Ruiz M. 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.

✓ Osteopontina e Integrina $\alpha v \beta 3$ en la Interfase Placentaria Porcina. Velez C, Williamson D, Garro A, Lopez N, Konkurat M, Barbeito C. 2018. XI Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. Salta.

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

✓ Estudio de la expresión de integrinas y sus ligandos en la interfase feto-materna durante la gestación porcina. Vélez C.L.; Williamson D.M.; García M.G.; Barbeito C. y Konkurat, M.A. Mar del Plata, 2018. 41° Congreso Argentino de Producción Animal. REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL VOL 38 SUPL. 1: 33-56 (2018). ISSN: 0326-0550.

✓ Interleukin-6 concentration in serum and placental extracts during porcine gestation. Giai R; Williamson D; Velez C y Clazure M. 2020. Medicina. Buenos Aires. Vol 80 N° V. pp 143. ISSN: 0025-7680.

✓ Efectos de los estrógenos y la Progesterona en ovarios y placentas porcinas de 70 días de gestación. Marrón Y, Canovas M, Roth K, Signorelli L, García M, Velez C, Viglierchio M, Williamson D y Yaful G. 2021. VI Jornadas Internacionales, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. INITRA.

✓ Estudio de Citoquinas Durante la Placentación Porcina. Velez, C.L.; Williamson, D.M.; Konkurat, M.A.; Clazure, M.; Giai, R.; Gastaldo, K.; Lopez, N. Vetec Revista Académica de Investigación, Docencia y Extensión de las Ciencias Veterinarias. Edición Especial I Jornada de Ciencia y Técnica y Extensión. IV Jornada Interinstitucional Facultad de Ingeniería- Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam. Vol. 2 N° 3 2021 E-ISSN 2683-9237

✓ Expresión de integrina $\alpha v \beta 1$ y sus ligandos, osteopontina y vitronectina en distintos estadios de la placentación porcina. Williamson, D.M.; Konkurat, M.A.; Vélez, C.L.; García, M.G.; Bruni, M.A.; Garro, A.C.; Fernandez, L.; Lopez, N.; Alderete, S.; Gastaldo, K.; Montesino Vasquez, O. Vetec Revista Académica de Investigación, Docencia y Extensión de las Ciencias Veterinarias. Edición Especial I Jornada de Ciencia y Técnica y Extensión. IV Jornada Interinstitucional Facultad de Ingeniería- Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam. Vol. 2 N° 3 2021 E-ISSN 2683-9237

✓ Expresión de vitronectina en la placentación porcina: resultados Preliminares. Quiroz Peralta J., Vélez C., Lopez N., Clazure, M., García M., Williamson D. 2021. ISSN 1852-771X4. Rev. med. vet. (En línea) 2022, 101(2): 4 – 75

✓ Expresión del receptor de Il-6 en la placentación porcina: resultados preliminares. Giai L.R., Williamson D.M., López N., Konkurat M.A., Vélez C.L., Clazure M. ISSN 1852-771X4. Rev. med. vet. (En línea) 2022, 101(2): 4 – 75

✓ Galectinas durante la placentación porcina. Giai, R.; Williamson, D.; Clazure, M.; Barbeito, C.; García, M.; Ramos, S.; Sánchez F.; Sucuro A.; Cánovas L.; Marrón Y.; Lopez, N.; Konkurat, M.; Gastaldo, M.; Fernandez, L.; Viglierchio, M.C. y Velez C. 2022. Vetec. Vol 3 N° 3. P58-59. E-ISSN 2683-9237

✓ Expresión de Galectina 3 en tejido placentario porcino. Resultados preliminares. Canovas L.; Benitez, V.; Roth, N.; Clazure, M.; Williamson, D., García, M.; Viglierchio, M.C.; Sola, D.; Badiola, J.J.; Barbeito, C.; Velez, C. Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80. ISSN 1852-771X

✓ Vitronectina e integrina $\alpha v \beta 3$ en la interfase placentaria porcina. Canovas L.; Lopez N.; Velez C.; Quiroz Peralta J.; Clazure, M.; García M.; Williamson D. Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80. ISSN 1852-771X

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- ✓ Immunolocalización de receptores de estrógenos acoplados a proteína G en placentas Porcinas. Roth K.N.; Canovas M.L.; Etcheverry B.; Devaux L.; Clauzure M.; García M.G.; Lacolla D.V.; Velez C.L.; Viglierchio MdC.; Williamson D.M. Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80. ISSN 1852-771X
- ✓ Acuña F, Portiansky EL, Miglino MA, Flamini MA & Barbeito CG. 2023. Embryonic-placental relationship in *Lagostomus maximus* as compared to other hystricognath rodents and eutherian mammals. *Zoology*. 158, 126082. <http://dx.doi.org/10.1016/j.zool.2023.126082>
- ✓ Acuña F, Woudwyk M, Portiansky EL, Flamini MA, Miglino MA, & Barbeito CG. Animal models for studies on embryo loss. Under review, *Theriogenology Wild*.

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

- ✓ Proyecto de investigación “Rol de la placenta en la preñez porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Facultad Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Res. N° 043/2000 C. D. mayo de 2000- mayo de 2004.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio de la respuesta inmune durante la gestación porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Universidad Nacional de La Pampa-. Res. N° 072/2004 C. S. marzo de 2005- marzo de 2008.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del papel de las Ig G durante la gestación porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Facultad Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Res. N° 194/2004 C. D. junio de 2004- diciembre de 2006.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del rol de las integrinas durante la gestación porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Universidad Nacional de La Pampa-. Res Directorio ANPCYT N°: 092/2006.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio de la expresión de las integrinas durante la placentación porcina”. Directora: Dra. Mirta Konkurat. Res. 020/2008 CD. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam. Enero de 2008- Diciembre de 2010.
- ✓ Proyecto de investigación “Determinación del rol de la progesterona a través de sus receptores en útero y en placenta porcina”. Directora: Dra. Graciela Yaful. Res. UNRN 637/2010. Universidad Nacional de Río Negro.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio de moléculas de adhesión que participan en la placentación porcina”. Directora: Dra. Mirta Konkurat. Res. 360.11 CD. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam.
- ✓ Proyecto de investigación “Placentación Porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Universidad Nacional de La Pampa-. Res Directorio ANPCYT N°: 452/2012.
- ✓ Programa de investigación “Placentación Porcina”. Director: Dra Mirta Konkurat. Codirector: Dra Delia Williamson. Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLPam. Res. 311.17
- ✓ Proyecto de investigación “Expresión de integrina $\alpha 5 \beta 1$ y sus ligandos, osteopontina y vitronectina en distintos estadios de la placentación porcina”. Directora: Dra. Delia Williamson. Res. 311.17 CD. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam.
- ✓ Proyecto de investigación “Galectinas durante la placentación porcina” Directora: Dra. Carolina Velez y en carácter de investigadora la Dra Delia Williamson. Res. N° 179.2021.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del proceso proinflamatorio y su regulación durante la placentación porcina” Directora: Dra. Mariángeles Clauzure y en carácter de investigadora la Dra Delia Williamson. Res. N° 352.2022.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del proceso proinflamatorio y su regulación durante la placentación porcina” Directora: Dra. Mariángeles Clauzure. (PICT 2019-3704)
- ✓ Beca Estancias Cortas Fundación Carolina. Periodo: 07 enero 2021- 07 marzo 2021. Becaria/o: VÉLEZ, Carolina Lucía. Director de Beca: BARBEITO, Claudio Gustavo (UNLPam-

Corresponde a Resolución N° 404/2024

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: La cerda posee un elevado índice de pérdida embrionaria/fetal. Aún no se conocen por completo los mecanismos que permiten una gestación exitosa. Los cambios en el ambiente uterino influirían en el desarrollo y la viabilidad de los embriones/fetos. Es necesario profundizar las investigaciones acerca de ciertos aspectos de la reproducción porcina que se relacionan con características placentarias, de los embriones/fetos en distintos períodos de gestación y su relación con la nutrición histotrófica.

OBJETIVO GENERAL: Estudiar las características morfométricas de la placenta y embrión/feto para dilucidar su rol en la preñez porcina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Determinar el número, longitud y peso de los embriones/fetos en los períodos de gestación seleccionados.
- ✓ Determinar los pesos y longitud de las placentas.
- ✓ Determinar el área glandular de cada unidad feto-placentaria.
- ✓ Establecer posibles relaciones entre la longitud y el peso de los embriones/fetos, con los pesos y la longitud de las placentas y el número y diámetro de los adenómeros de cada período de gestación.
- ✓ Determinar el índice de proliferación celular en glándulas a través de marcadores moleculares específicos.
- ✓ Determinar si hay diferencias entre los períodos de gestación estudiados en los parámetros glandulares.

HIPÓTESIS: Las características morfométricas placentarias estarían relacionadas con los parámetros morfológicos embrionarios/fetales necesarios para llevar a cabo una preñez porcina exitosa.

RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO: Contar con información clave involucrada en el correcto desarrollo de la preñez permitirá idear tecnologías que se podrán utilizar para seleccionar los reproductores que posean dichas características reproductivas.

Además, este estudio aportará conocimientos sobre la gestación porcina que brindará información acerca de mecanismos involucrados en las pérdidas embrionarias y fetales, patologías de suma importancia que afectan a esta especie. Disminuir dichas pérdidas provocará un incremento en la productividad que impactará en las empresas de ganado porcino. Asimismo, este proyecto de investigación aportará a la formación de recursos humanos.

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS

Animales: Se utilizarán un total de 12 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 dos momentos de la gestación: placentación de 20-23 días de gestación (dg), n=4 y placentación de 30-32 dg (n=4). Además, se procesarán 4 muestras de endometrio provenientes de cerdas no gestantes (NG) para

Corresponde a Resolución N° 404/2024

utilizarlas como control. Se determinará la edad gestacional de las placentas de acuerdo a la fecha de servicio registrada.

Las etapas de gestación fueron seleccionadas de ese modo, ya que en ellas ocurren procesos moleculares y fisiológicos indispensables para una gestación exitosa. A los 20-23 dg finaliza la etapa de implantación en la gestación porcina. A los 30-32 dg comienza la osificación y el desarrollo del sistema inmunológico.

Tracto reproductor: Los tractos reproductivos se lavarán con solución salina de Hank's (SSH), conteniendo 10.000 U/ml de penicilina G sódica, 10 mg/ml de sulfato de estreptomicina y 2,5 ug/ml de fungizona, manteniéndolos a 4°C hasta su procesamiento inmediato en el laboratorio. Se detectará la ubicación de los embriones/fetos en el borde anti-mesometrial de los cuernos uterinos comenzando del ovario izquierdo al cuerpo uterino y luego desde el ovario derecho al cuerpo uterino. Se realizará la toma de muestra de la interfase placentaria de cada unidad feto-materna. Inmediatamente se la preservará para realizar técnicas histológicas. Dado el tipo de placenta, no invasiva, se podrá separar fácilmente el constituyente placentario materno del fetal ejerciendo tracción sobre estos tejidos y cada placenta fetal será extraída, pesada y medida su longitud. De cada embrión/feto se registrarán las medidas de peso y longitud.

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 Leica DM500 (Alemania). Se tomarán imágenes con una cámara de alta definición Leica ICC50 W incorporada al microscopio y se procesarán en formato TIFF o JPG.

Determinación de área glandular: Se observarán un mínimo de 20 campos microscópicos a 40x. Se realizará la medición del área glandular uterina de cada unidad feto-placentaria con el programa Image J según Gonzalez (2018).

Técnica de Inmunoperoxidasa para determinar proliferación: Se lavarán los cortes histológicos con PBS e incubarán con solución de peróxido de hidrógeno al 3 % (para inactivar la peroxidasa endógena) 20 minutos. Se lavarán 2 veces con PBS 5 minutos cada uno (en adelante 2x5'). Se realizará tratamiento de recuperación antigénica con un microondas de uso doméstico utilizando buffer de citrato 0,01 molar, pH 6,0. Se irradiará a potencia 100% en baño maría durante 3 minutos y se repetirá a potencia 50% por 9 minutos. Se enfriarán durante 20 minutos en el buffer. Seguidamente se realizarán lavados de PBS (2x5'). Para bloquear la biotina endógena se utilizará el kit Avidin-biotin-blocking-reagents (Cell Marque, USA). Se incubará con Avidina 10 minutos. Se lavará con PBS (2x5'). Y se incubará con Biotina 10 minutos. Se lavará con PBS (2x5'). Luego se agregará Tritón para permeabilizar la membrana nuclear x 100 al 0,1 % en PBS durante 5 minutos y se bloquearán las uniones inespecíficas mediante la incubación durante 30 minutos con albúmina sérica bovina (BSA) diluída en PBS a temperatura ambiente. Sin lavar se agregará el anticuerpo primario monoclonal Ki-67 NCL del laboratorio Leica Biosystems (Novocastra Lab, Newcastle, United Kingdom), a una dilución de 1:100 y se incubará a 4 °C toda la noche. Al retirarlos del refrigerador y luego de atemperar los preparados, se lavarán con PBS (2x5') y se incubarán con el anticuerpo secundario biotinilado (Cytoscan Biotinylated Link, Cell Marque, USA) durante 30 minutos a temperatura ambiente con cobertura de film. Luego se lavarán con PBS (2x5') y se colocará estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (Cytoscan TM HRP Detection System, Cell Marque, USA) durante 30 minutos. Luego de un último lavado con PBS (2x5'), se agregará la solución cromógena diaminobenzidina (DAB Substrate Kit, Cell Marque) durante 15 minutos para revelar el color y se cortará la coloración con un pasaje bajo agua corriente. Los preparados se contrastarán con hematoxilina activada por 1 minuto (Biopur, Argentina) y se realizará el viraje del colorante con agua corriente tibia durante 10 minutos. Por último se colocarán los preparados en PBS y se procederá con la deshidratación mediante pasajes por alcoholes de graduación creciente y la aclaración con xilol para el montaje con Balsamo de Canada (Canadax, USA).

[illegible]

Año 2

Año 3

Año 4

Año 5

[illegible]

Corresponde a Resolución N° 404/2024

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

El lugar de trabajo (CeBioCem) cuenta con el Área de Biología Celular y Molecular, el Área Microscopía e Inmunohistoquímica y el Área Procesamiento de Imágenes que poseen la infraestructura, los servicios y el equipamiento necesarios para la realización del plan de trabajo. Para la toma de muestra las mesadas necesarias y el instrumental acorde, como las balanzas analíticas. Los equipamientos necesarios para la confección de tacos y posterior montaje al portaobjetos (micrótopo, estufa, baño maría). Todas las muestras se observarán con un microscopio óptico Leica DM500 (Alemania), se tomarán imágenes con una cámara de alta definición Leica ICC50 W y procesarán en formato TIFF o JPG. Y los equipamientos e insumos necesarios para las pruebas inmunohistoquímicas.

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual) Año 1

✓ Bienes de Consumo	\$ 30000
✓ Otros (especifique) presentación congresos/jornadas.....	\$ 20000
✓ Total.....	\$ 50000

Año 2

✓ Bienes de Consumo	\$ 40000
✓ Otros (especifique) presentación congresos/jornadas.....	\$ 30000
✓ Total.....	\$ 70000

Año 3

✓ Bienes de Consumo	\$ 60000
✓ Otros (especifique)	\$ 20000
✓ Total.....	\$ 80000

Año 4

✓ Bienes de Consumo	\$ 70000
✓ Otros (especifique)	\$ 30000
✓ Total.....	\$ 100000

Año 5

✓ Bienes de Consumo	\$ 30000
✓ Otros (especifique) presentación/publicación.....	\$ 70000
✓ Total.....	\$ 100000

Total 5 años

✓ Bienes de Consumo	\$ 230000
✓ Otros (especifique)	\$ 170000
✓ Total.....	\$ 400000

Corresponde a Resolución N° 404/2024

** 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

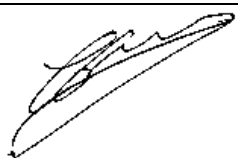
- Bazer FW, Thatcher WW. Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F2 α by the uterine endometrium. Prostaglandins. 1977; 14:111-129.
- Bazer FW, Johnson GA. Pig blastocyst-uterine interactions. Differentiation. 2014; 87, 52–65.
- Cristofolini, A., Sanchis, G., Moliva, M., Alonso, L., Chanique, A., Koncurat, M. & Merkis, C. (2013). Cellular remodelling by apoptosis during porcine placentation. Reproduction in Domestic Animals, 48(4), 584–590. <https://doi.org/10.1111/rda.12130>
- Franczak A, Kotwica G. Secretion of estradiol-17 β by porcine endometrium during early pregnancy and luteolysis. Theriogenology. 2008; 69: 283-289.
- Gilbert, S.F. (2010) Developmental biology. 9th Edition, Sinauer Associates, Sunderland.
- R. D. Geisert, R. A. M. Schmitt, Early embryonic survival in the pig: Can it be improved? Journal of Animal Science, Volume 80, Issue E-suppl_1, 2002, Pages E54–E65, <https://doi.org/10.2527/animalsci2002.00218812008000ES10009x>
- Gonzalez, A. (2018). Image J una herramienta indispensable para medir el mundo biológico. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/328253430_Image_J_una_herramienta_indispensable_para_medir_el_mundo_biologico.
- Gray CA, Taylor KM, Ramsey WS, Hill JR, Bazer FW, Bartol FF, Spencer TE. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. Biol Reprod 2001a; 64:1608–1613.
- Gray CA, Bartol FF, Tarleton BJ, Wiley AA, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. Developmental biology of uterine glands. Biol Reprod. 2001b Nov; 65(5):1311-23. doi: 10.1095/biolreprod65.5.1311. PMID: 11673245.
- Jamil, M., Kridli, R. T., Ngo, B., Liu, X., Khalaj, K., Tayade, C., & Bartlewski, P. M. (2017). The expression of autophagy-related genes Atg9a and Atg9b in normally developing and arresting porcine conceptuses on gestational days 20 and 50. Integrative Journal of Veterinary Biosciences, 1, 1-8.
- Knight JW, Bazer FW, Thatcher WW, Franke DE, Wallace HD. 1977. Conceptus development in intact and unilaterally hysterectomized-ovariectomized gilts: interrelations among hormonal status, placental development, fetal fluids and fetal growth. J. Anim. Sci. 44:620–37
- Knight JW, Kukoly CA. In vitro release of progesterone and estrone by the porcine throughout gestation. Domest Anim Endocrinol. 1990; 7(4):497-508.
- Kridli RT, Khalaj K, Bidarimath M, Tayade C. Placentation, maternal-fetal interface, and conceptus loss in swine. Theriogenology. 2016 Jan 1; 85(1):135-44. doi: 10.1016/j.theriogenology. 2015.08.001. Epub 2015 Aug 7. PMID: 26324112.
- Langendijk P, Chen TY, Athorn RZ, Bouwman EG. Embryonic survival at day 9, 21 and 35 of pregnancy in intact and unilaterally oviduct ligated multiparous sows. Animal. 2016 Aug;10(8):1336-41. doi: 10.1017/S175173111600029X. Epub 2016 Mar 1. PMID: 26927693.
- Langendijk P. Latest Advances in Sow Nutrition during Early Gestation. Animals (Basel). 2021 Jun 9; 11(6):1720. doi: 10.3390/ani11061720. PMID: 34207640; PMCID: PMC8227264.
- Liu X, Schwarz T, Murawski M, Tayade C, Kridli R, Prieto Granados AM, Sharma C, Bartlewski PM. Measurements of circulating progesterone and estrone sulfate concentrations as a diagnostic and prognostic tool in porcine pregnancy revisited. Domest Anim Endocrinol. 2020 Apr;71:106402. doi: 10.1016/j.domaniend.2019.106402. Epub 2019 Dec 2. PMID: 31972516.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

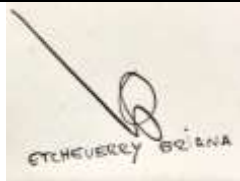
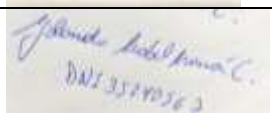
- Luna L. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces. New York. Toronto. McGraw-Hill. 1968. 40 p.
- Małopolska MM, Tuz R, Schwarz T, Ekanayake LD, D'Ambrosio J, Ahmadi B, Nowicki J, Tomaszewska E, Grzesiak M, Bartlewski PM. Correlates of reproductive tract anatomy and uterine histomorphometrics with fertility in swine. *Theriogenology*. 2021 Apr 15; 165:44-51. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.02.007. Epub 2021 Feb 11. PMID: 33611173.
- Merkis C, Cristofolini A y Koncurat M, (2007). Apoptotic phenomena during porcine placentation. REDVET. Available: www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107.html.
- Meyer AE, Pfeiffer CA, Brooks KE, Spate LD, Benne JA, Cecil R, Samuel MS, Murphy CN, Behura S, McLean MK, Ciernia LA, Smith MF, Whitworth KM, Wells KD, Spencer TE, Prather RS, Geisert RD. New perspective on conceptus estrogens in maternal recognition and pregnancy establishment in the pig. *Biol Reprod*. 2019; pii:ioz058. doi: 10.1093/biolre/ioz058. [Epub ahead of print]
- Vallet JL (2000) Fetal Erythropoiesis and Other Factors which Influence Uterine Capacity in Swine, *Journal of Applied Animal Research*, 17:1, 1-26, DOI: 10.1080/09712119.2000.9706289
- Viglierchio M, Williams S, García M, Lacolla D, Marrón Y, Moscovakis E, Koncurat M, Yaful G. Maternal-fetal communication: role of fetal estrogens in porcine pregnancy. VI SLIMP-Latin American Society for Maternal Fetal Interaction and Placenta. Abstract. Placenta. 2017; Vol 51. [http://www.placentajournal.org/issue/S0143-4004\(17\)X0002- 7?page=1](http://www.placentajournal.org/issue/S0143-4004(17)X0002-7?page=1)
- Whyte JJ; Meyer AE; Spate LD, Benne JA, Cecil R, Samuel MS, Murphy CN, Prather RS, Geisert RD. Inactivation of porcine interleukin-1 β results in failure of rapid conceptus elongation. *Proc Natl Acad Sci*. 2018; 115(2):307-312.
- Williamson DM, Yaful GN, Riesco OF, Koncurat MA. Progesterona, estrógenos y expresión de integrinas en la gestación temprana porcina. *Ciencia Veterinaria*. 2008; 10(1): 13-23.
- Williamson DM. Estudio de la presencia de integrinas, y su relación con los niveles de esteroides e interleuquinas, durante la placentación porcina. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. 2011.
- Wilson ME, Biensen NJ, Youngs CR, Ford SP. Development of Meishan and Yorkshire littermate conceptuses in either a Meishan or Yorkshire uterine environment to day 90 of gestation and to term. *Biol Reprod*. 1998 Apr;58(4):905-10. doi: 10.1095/biolreprod58.4.905. PMID: 9546719.
- Yaful G, Riesco O, Koncurat M. Concentración de progesterona en placenta materna, fetal y líquido amniótico durante la gestación porcina. *ALPA*. 2005; 13:136-137.
- Yaful GN. Estudio de la Placenta Porcina: Concentración de Hormonas Esteroides y Parámetros de Eficiencia Reproductiva. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. 2009.
- Ziecik AJ, Przygodzka E, Kaczmarek MM. Corpus Luteum Regression and Early Pregnancy Maintenance in Pigs. In R. Meidan (ed.). *The Life Cycle of the Corpus Luteum*. Springer International Publishing Switzerland, 2017, p. 227–248.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

Título proyecto: “Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas”

Integrantes	Firma
García, Mónica Graciela	
Williamson, Delia María	
Vélez, Carolina Lucía	
Clauzure, Mariángeles	
Barbeito, Claudio Gustavo	
Acuña, Francisco	
Cánovas, Mariela Lorena	
Rodriguez, Alfonsina	
Rayer, Ángeles Gisela	

Corresponde a Resolución N° 404/2024

García Schanz, Laura Verónica	
Ramos, Sebastián	
Devaux Antonini, Luz Melina	
Etcheverry, Briana Selene	
Marrón, Yolanda Mabel	
Fernández Lorena	

Corresponde a Resolución N° 404/2024



Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

1.1. TÍTULO del PROYECTO: Análisis del patrón espacio-temporal de residuos glicosilados en la placenta de cerdas.

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Básica

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: Centro de Biología Celular y Molecular. Facultad Ciencias Veterinarias-UNLPam.

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	Tiempo dedicación hs./semana
García Mónica Graciela	27-13213398/6	MV	V	D	Histología II	Prof Adj Exclusiva	5 hs
Velez Carolina Lucía	27-28485826/9	Dra	V	I	Histología II	JTP Semiexclusiva	5 hs
Williamson, Delia María	27-24499522/0	Dra	III	I	Centro Biología Celular y Molecular Biología Celular	Directora CeBioCeM Prof Adj Exclusiva	5 hs

Corresponde a Resolución N° 404/2024

Clauzure Mariangeles	27-30782086/8	Dra	-	I	Biología General Genética Animal	Ayud. 1ra Simple	5 hs
Barbeito Claudio Gustavo	20-14922728/9	Dr	I	I	Histología FCV-UNLP	Prof Titular Exclusivo	5 hs
Acuña Francisco	20-34170751/0	Dr	IV	I	Histología II FCV-UNLP	JTP Simple	5 hs
Cánovas Mariela Lorena	27-36963409/2	MV	-	I	Histología II	Ayud. 1ra Semi-Exclusivo	5 hs
Lacolla Daniel Vicente	20-10809421/5	MV	III	I	Centro de Biología Celular y Molecular FCV-UNLPam	Prof Consulto	5 hs
Rodriguez Alfonsina	27-33985183/8	Esp	-	I	Histología II	Ayud 1ra Simple	5 hs
Rayer, Ángeles Gisela		Biol	-	I	CeBioCeM	Adscripta	5 hs
García Schanz Laura Verónica	27-31625620/7	Bioq	-	AI	CeBioCeM	Adscripta	5 hs
Ramos Sebastián	20-31486758/1	Esp	-	I	Prod. Porcina	JTP Semiexclusivo	5 hs
Devaux Antonini Luz Melina	20-43372726/7	Estudiante	-	AI	Histología II	Adscripta	5 hs
Etcheverry Briana Selene	27-42234684/3	Estudiante	-	AI	Histología II	Adscripta	5 hs
Yolanda Mabel Marron	27-35240567/7	Bioq-MV	-	I	Química Biológica	JTP Exclusivo	5 hs
Fernandez Lorena	27-21552702/1	No docente	-	Personal apoyo	CeBioCeM	Categoría 7	2 hs

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

2.3.1. 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.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

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

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 5 años

3.1. FECHA de INICIO: 01/01/25

FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/29

4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)

La placenta es un órgano temporario en donde ocurren interacciones moleculares entre el *conceptus* y la madre, y cumplen un rol vital en el mantenimiento de la gestación. En este contacto participan moléculas de adhesión y antiadhesivas que deberán expresarse coordinadamente en tiempo y localización. En muchas células eucariotas animales, cadenas de oligosacáridos específicas unidas a los componentes de la membrana plasmática junto a glicoconjugados adsorbidos en la superficie, forman parte del glicocálix, una superficie rica en información que la célula expone a su entorno. Esas cadenas de carbohidratos interactúan con la matriz extracelular, jugando un papel en el reconocimiento y la adhesión célula-célula, la migración celular durante el desarrollo y la respuesta inmunitaria, entre otros procesos celulares. En la mayor parte de estos casos, el glúcido portador de la información está unido covalentemente a una proteína o a un lípido para formar un glicoconjugado, que es la molécula biológicamente activa. En el cerdo se desarrolla una placenta de tipo epiteliocorial, plegada y no invasiva; considerando que muchas de las moléculas involucradas en la interacción feto-materna son glicoconjugados, proponemos identificar los carbohidratos del glicocalix en los tejidos maternos y fetales de las placenta porcina en distintos períodos de gestación.

4.1. **Palabras claves:** Placenta, cerda, Glicoconjugados, Lectin histoquímica

4.2. Abstract en Inglés: (Máximo 200 palabras)

The placenta is a temporary organ where molecular interactions between the conceptus and the mother occur, playing a vital role in maintaining gestation. Adhesion and anti-adhesive molecules participate in this contact, which must be expressed in a coordinated manner in both time and location. In many animal eukaryotic cells, specific oligosaccharide chains attached to plasma membrane components, along with adsorbed glycoconjugates on the surface, form part of the glycocalyx, a surface rich in information that the cell exposes to its environment. These carbohydrate chains interact with the extracellular matrix, playing a role in cell-cell recognition and adhesion, cell migration during development, and immune response, among other cellular processes. In most cases, the carbohydrate carrying the information is covalently attached to a protein or lipid to form a glycoconjugate, which is the biologically active molecule. In pigs, an epitheliochorial, folded, and non-invasive type of placenta develops; considering that many of the molecules involved in feto-maternal interaction are glycoconjugates, we propose to identify the carbohydrates of the glycocalyx in maternal and fetal tissues of porcine placentas at different gestational periods.

4.3. **Keywords:** Placenta, Swine, Glycoconjugates, Lectin histochemistry

Corresponde a Resolución N° 404/2024

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. Introducción

La renta económica en la producción porcina se ve comprometida por las pérdidas prenatales. El manejo reproductivo es fundamental para alcanzar índices óptimos que se traduzcan en una mayor rentabilidad y eficiencia de la inversión. En cerdos, la mortalidad embrionaria/fetal sin causa específica, asciende a un 30% entre los 20 y 50 días de gestación (dg) (Bazer, 2014; Jamil et al., 2017; Edwards y col., 2012; Malopolska et al., 2021), y otra pérdida se observa entre los 50 y 114 dg sumando 15% más de lechones momificados o nacidos muertos (Malopolska et al., 2021). Es importante para el desarrollo del *conceptus* el ambiente que provee la cerda, y éste lo brinda la placenta, que es el órgano transitorio, responsable no sólo de la implantación del mismo y del mantenimiento de la preñez, sino también de la posibilidad de sobrevivencia de las crías (Van der Lende and Vans Rens, 2003).

La placenta porcina es epiteliocorial, difusa incompleta, adecidua, plegada y no invasiva (Cristofolini y col., 2013). Antes del establecimiento de la placenta, hay un largo período de peri-implantación donde se produce la migración de los *conceptus*, la separación de los mismos en la cavidad uterina y su elongación entre los días 4 a 12 post fertilización. Los cambios que se producen en el endometrio, a lo largo de la gestación, modifican la arquitectura del mismo, aumentando la superficie de contacto entre los epitelios trofoblástico y uterino para asegurar un mayor aporte de nutrientes y oxígeno y la eliminación eficiente de desechos (Wooding and Burton, 2008). Las hormonas ováricas, estrógenos (Es) y progesterona (P₄) producen cambios en el útero que se prepara para la implantación caracterizada por la proliferación y la diferenciación de las células endometriales (Rider et al., 1998), posibilitando la aposición del trofoblasto al epitelio uterino, la adhesión y la siguiente implantación, culminando con la formación de la placenta (Garlow et al., 2002; Geisert et al., 2017).

Los carbohidratos de las superficies celulares juegan un rol significativo en el reconocimiento y la adhesión celular, y su expresión va cambiando a lo largo del desarrollo de la placenta (Gimeno y Barbeito, 2004; Ambrosi et al., 2005; Fernandez et al., 2014; Acuña et al., 2023). La presencia de éstos en la interfase materno-fetal es de fundamental importancia, ya que permiten las interacciones entre los componentes del *conceptus* y el endometrio (Cassina et al., 2019). Estos carbohidratos se encuentran unidos covalentemente a proteínas o lípidos formando glicoconjugados (Gimeno y Barbeito, 2004; Pérez Balderas, 2005) que se unen específicamente a lectinas, permitiendo su detección. El conjunto de azúcares dentro de un glicoconjugado se denomina glicoma (Gimeno y Barbeito, 2004). Los distintos N-glicomas caracterizan los fenotipos del trofoblasto que participan en la interfase feto materna en los distintos períodos de gestación (Robajac et al., 2014). La unión de varios monosacáridos, teniendo en cuenta las variedades de cada uno y los diferentes puntos de unión entre ellos y las posibles ramificaciones, dan miles de posibilidades de formar moléculas diferentes en comparación con los nucleótidos o las proteínas. (Sharon, 1993; Gimeno y Barbeito, 2004).

Los sitios comunes donde se encuentran los glicoconjugados son la membrana celular y la matriz extracelular (Varki et al., 2009). También pueden ser secretados hacia una región determinada o hacia la circulación y, en ocasiones, pueden existir algunos solubles que se localizan en el núcleo o en el citosol (Cohen et al., 2016). Los carbohidratos expuestos en la superficie celular son la base de muchos procesos de interacción entre células como migración, adhesión, proliferación (Gimeno y Barbeito, 2004). Los glicoconjugados que poseen las células trofoblásticas tienen acción sobre el sistema inmune materno generando tolerancia fetal (Aplin, 1999). El glicotipo materno del epitelio luminal específico para cada especie (Jones et al., 1997), representaría las moléculas responsables de mediar la capacidad invasiva del trofoblasto, tejido que posee actividad proliferativa e invasiva (Zubeldía, 2007). Se ha apoyado el papel del reconocimiento de

Corresponde a Resolución N° 404/2024

N-glicanos en la inmuno-tolerancia durante la gestación, ya que por ejemplo células uNK en ratones pueden regular negativamente la producción de Interferón gamma a través de la interacción dependiente de carbohidratos (Clark, 2014; Borowski et al., 2020). Diferentes proteínas N-glicosiladas, como las integrinas (Bojic-Trbojevic, 2018), la gonadotropina coriónica humana (hCG) (Ibeto et al., 2020), los antígenos leucocitarios humanos (HLA) (Ryan and Cobb, 2012), las glicoproteínas asociadas a preñez (PSG) (Moore et al., 2022) y la inmunoglobulina G (IgG) (Jennewein et al., 2019) se expresan abundantemente en la interfaz feto-materna, y están involucrados en distintas actividades trofoblásticas.

Nuestro grupo de investigación ha estudiado numerosas integrinas ($\alpha\beta3$, $\alpha5\beta1$, $\beta1$, $\alpha3$) y sus ligandos (fibronectina, laminina, colágeno V, osteopontina, vitronectina), en la interfase feto-materna a lo largo de la gestación porcina (Williamson, 2011; Vélez et al., 2017; Vélez et al., 2023). Tanto la integrina $\alpha5\beta1$ como la integrina $\alpha\beta3$ son los principales receptores para fibronectina, y los patrones de N-glicosilación ambas subunidades influyen en sus funciones biológicas (Isaji et al., 2006; Hang et al., 2016). Hemos demostrado que, durante la gestación en la cerda, se establecen diferentes patrones de expresión de estas moléculas, por lo que sus residuos glicosilados cumplirían un rol fundamental en la interacción entre estas moléculas según el periodo de placentación donde se las encuentre expresadas mayormente (Vélez et al., 2023).

En cerdos, donde la ventana de implantación comienza en el día 13/14 de gestación (dg), se ve un descenso de la expresión de ciertas proteínas glicosiladas, como la Muc1 entre el día 4 al 10 de gestación, sugiriendo la importancia de la presencia o ausencia de los glicanos en el diálogo endometrio/*conceptus* en distintos momentos de la gestación (Aplin, 1999). Las unidades de ácido siálico (ácido neuramínico) y de sulfatos imparten cargas negativas a las mucinas, mientras que las fucosas proporcionan hidrofobicidad. Esto hace pensar que los azúcares periféricos pueden contribuir a la determinación de las propiedades físicas y biológicas de las mucinas. La síntesis de dichos azúcares depende de que se expresen o no ciertas enzimas específicas (Clausen et al., 1992; Dennis et al., 1999a; 1999b), ya que ratones nulos para algunas de ellas mueren en el útero (Taylor and Drickamer, 2003). Por lo tanto, las alteraciones de las glicosilaciones periféricas, que se producen probablemente en varias enfermedades, tienen la capacidad de alterar las propiedades físicas de las mucinas, del mucus que constituyen (Ferretti, 2014) y por ende de la actividad biológica que estas realicen durante la placentación.

Debido a estos antecedentes y conociendo que las pérdidas embrionarias/fetales son elevadas en la cerda, sugerimos que podría ser la expresión o no de ciertos glicoconjugados los que influyan en la correcta placentación.

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:

- ✓ Progesterona, Estrógenos y Expresión de Integrinas en la Gestación Temprana Porcina. Williamson D; Yaful G; Riesco O; Konkurat M. Ciencia Veterinaria. UNLPam. 2008 vol. N°. p13 - 22. ISSN 1515-1883.
- ✓ Expresión de la Integrina $\alpha\beta3$ y de las Subunidades de las Integrinas $\alpha3$ y $\beta1$ Durante la Placentación Porcina. Williamson D; Konkurat M. InVet.: UBA. 2009 vol. N°. p31 - 37. ISSN 1514-6634.
- ✓ Determinación de la Concentración de IFN-g, IL-6, IL-12, IL-15 e IL-18 en Suero, Extractos Placentarios Maternos y Fetales a Través de la Gestación Porcina. Williamson D; Riesco O; Vélez C; Konkurat M. Ciencia Veterinaria. UNLPam. 2011 vol. N°. p30 - 41. ISSN 1515-1883.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- ✓ Detección de Fibronectina Durante la Placentación Porcina. Vélez C; Williamson D; Konkurat M. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 2014 vol.22 N°1/2. p31 - 36. ISSN 1022-1301.
- ✓ Perfil y Rol de Citoquinas en Suero, Homogenatos Placentarios Maternos y Fetales a Través de la Gestación Porcina. Williamson D; Riesco O; Barbeito C; Konkurat M. REDVET. 2015 vol.16 N°8. p1 - 14. ISSN 1695-7504.
- ✓ Concentración de Interleuquina 1- β durante la placentación porcina. Vélez C, Clauzure M, Williamson D, Barbeito C, Santa Coloma T y Konkurat M. Ciencia Veterinaria. 2018. Vol 20 n° 1. p13-24. ISSN 1515-1883.
- ✓ Inmunolocalización de la integrina $\alpha 5 \beta 1$, la laminina y el colágeno tipo v en placenta porcina en diferentes etapas gestacionales. Vélez, CL; Williamson, DM; Clauzure, M; Konkurat, MA; Barbeito, CG. InVet. 2019. Vol 21 (2): p1-12. ISSN 1514-6634 (impreso) ISSN 1668-3498 (en línea).
- ✓ IL-1 β , IL-2 and IL-4 concentration during porcine gestation. Velez C, Clauzure M, Williamson D, Konkurat M, Santa Coloma T and Barbeito C. Theriogenology. 2019. Vol 128. P 133-139. ISSN: 0093-691X.
- ✓ Expresión de citoquinas durante la gestación porcina. Gai L R, Williamson D M, Vélez C L, Clauzure M. Ciencia Veterinaria. 2022. Vol 24 n° 2. P171-190. ISSN 1515-1883.
- ✓ Are integrins and ligands correlated at pig placental interface during pregnancy? Vélez C, Clauzure M, Williamson D, Garcia M, Konkurat M and Barbeito C. Reproduction and Fertility. 2023. Vol 4 N° 1. P1-13. e 220079. Doi: <https://raf.bioscientifica.com/view/journals/raf/4/1/RAF-22-0079.xml>
- ✓ IFN- γ and IL-10: seric and placental profile during pig gestation Seric and placental cytokines in pig gestation. Vélez Carolina, Clauzure Mariángeles, Williamson Delia, Konkurat Mirta A. & Barbeito Claudio. An Acad Bras Cienc (2023) 95(1): e20201160 DOI 10.1590/0001-3765202320201160
- ✓ Changes in Immune Response during Pig Gestation with a Focus on Cytokines. Vélez, C.; Williamson, D.; Cánovas, M.L.; Gai, L.R.; Rutland, C.; Pérez, W.; Barbeito, C.G.. Vet. Sci. 2024, 11, 50. <https://doi.org/10.3390/vetsci11010050>

Trabajos presentados en congresos y jornadas.

- ✓ Estudio Preliminar de la Expresión de la Subunidad $\beta 1$ de las Integrinas Durante la Placentación Porcina. Williamson, D; Konkurat, M. Memorias. 2005. XXII Jornadas Científicas de la Asociación de Biología de Tucumán. Asociación de Biología de Tucumán.
- ✓ Estudio de la Expresión de la Integrina $\alpha \nu \beta 3$ y de la Subunidad $\beta 1$ durante la Placentación Porcina. Williamson D; Konkurat M. Argentina. Río Cuarto. 2006. V Congreso de Producción Porcina del MERCOSUR. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN-10: 950-665-394-1
- ✓ Expression of $\beta 1$ and $\alpha 3$ Integrins Subunits During Porcine Gestation. Williamson, D; Konkurat, M. Memorias. 2006. XXIV Reunión Científica Anual de la Sociedad de Biología de Cuyo IV Reunión Científica de la Sociedad Argentina de Microscopía. Sociedad de Biología de Cuyo.
- ✓ Detección de la Subunidad $\alpha 3$ de las Integrinas durante la Placentación Porcina. Williamson, D; Konkurat, M. Memorias. 2006. XXIII Jornadas Científicas Asociación de Biología de Tucumán. Sociedad de Biología de Tucumán.
- ✓ Expresión de la Subunidad $\beta 3$ de las Integrinas Durante la Placentación Porcina. Williamson, Delia; Alonso, Gabriela; Hernandez, Mabel; Konkurat, Mirta. Memorias. 2007. I Reunión Conjunta de Sociedades de Biología de la República Argentina. Sociedades de Biología.
- ✓ Estrogens, Progesterone and Integrins During Porcine Placentation. Williamson, D; Riesco, O; Alonso, G; Hernandez, M; Moschetti, E; Konkurat, M. Memorias. 2007. Simposio. III Latin-

Corresponde a Resolución N° 404/2024

American Symposium on Maternal-Fetal Interaction and Placenta: Basic & Clinical Research. Universidad Nacional de Córdoba.

✓ Concentración de Progesterona y Expresión de las Integrinas $\alpha\beta 3$, $\beta 1$ y $\beta 3$ Durante la Placentación Porcina. Williamson D; Yaful G; Riesco O; Konkurat M. Perú. Cuzco. 2007. Revista. Artículo Completo. XX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). ALPA, APPA.

✓ Estudio Comparativo de Radioinmunoanálisis y Quimioluminiscencia en la Determinación de Progesterona en Sueros y Homogenatos Placentarios Maternos y Fetales Porcinos. Riesco, Oscar; Yaful, Graciela; Williamson, Delia; Konkurat, Mirta. Memorias. 2008. Congreso. XI Congreso Argentino de Ciencias Morfológicas, I Congreso Internacional de Educación e Investigación en Ciencias Morfológicas I Encuentro de Histotecnólogos. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

✓ Expresión de la Integrina $\alpha\beta 3$ y de las subunidades $\alpha 3$ y $\beta 1$ en la Placentación Porcina. Williamson, Delia; Konkurat, Mirta. Memorias del IX Congreso Nacional de Producción Porcina, XV Jornadas de Actualización. 2008. Artículo Breve. Congreso. IX Congreso Nacional de Producción Porcina, XV Jornadas de Actualización Porcina. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN 978-950-665-475-7

✓ Expresión de la Subunidad $\beta 1$ de las Integrinas Durante la Gestación Temprana Porcina. Williamson D; Clauzure M; Konkurat M. Argentina. Santa Rosa. 2009. 6 Jornada de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional de La Pampa-Facultad Ciencias Veterinarias.

✓ Detección de la Integrina $\alpha\beta 3$ Durante la Placentación Porcina. Argentina. Konkurat M; Viglierchio M; Hernandez M; Williamson D. Trelew. 2009. I Jornadas Patagónicas de Biología y III Jornadas Estudiantiles de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. ISBN 978-987-1591-16-9.

✓ 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; Konkurat M. Argentina. Río Cuarto. 2010. X° Congreso Nacional de Producción Porcina. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN 978-950-665-616-4

✓ Expresión de Integrinas y Concentración de Progesterona y Estrógenos Durante la Preñez Porcina. Williamson D; Riesco O; Vélez C; Konkurat M. Argentina. Santa Rosa. 2011. VII Jornada de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional de La Pampa. ISSN 1853-9750.

✓ Regulación de la Placentación Porcina por Progesterona, Moléculas de Adhesión y el Sistema Inmunológico. Konkurat M; Yaful G; Williamson D; Garro A; Viglierchio M; García M; Hernandez M; Riesco O; Riesco S; Witt S; Lacolla D; Bruni M; Vélez C; Gelada M. Argentina. Santa Rosa. 2012. Jornadas Ciencia y Técnica 2012. UNLPam.

✓ Estudio de Moléculas de Adhesión que Participan en la Placentación Porcina. Williamson D; Konkurat M; Garro A; Viglierchio M; García M; Hernandez M; Riesco O; Velez C. Argentina. Santa Rosa. 2012. E-Book. Jornada Ciencia y Técnica 2012. UNLPam. ISBN 978-950-863-178-7

✓ Interrelación de Progesterona, Estrógenos e IL-15 Durante la Preñez Porcina Temprana. Konkurat M; Williamson D; Yaful G. Argentina. Buenos Aires. 2012. LVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, LX Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología. SAIC y SAI.

✓ Expresión de Fibronectina en la Placenta Porcina. Argentina. Velez C; Williamson D; Sampredo F; García M; Hernandez M; Konkurat M. La Plata. 2013. XV Congreso Sociedad Ciencias Morfológicas, 12 Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. ISBN 978-987-26182-2-3

✓ Estudio de Moléculas de Adhesión que Participan en la Placentación Porcina. Konkurat M; Williamson D; Bruni M; García M; Garro A; Gelada M; Hernandez M; Martin P; Riesco O; Salas

Corresponde a Resolución N° 404/2024

C; Sampedro F; Vélez C; Viglierchio M. Argentina. Santa Rosa. 2014. Jornadas de Ciencia y Técnica 2014.

✓ Placentación Porcina. Koncurat, M; Bruni M; García M; Garro A; Hernandez M; Lacolla D; Riesco O; Vélez C; Viglierchio M; Williamson D. Argentina. Santa Rosa. 2014. Jornadas de Ciencia y Técnica 2014.

✓ Expresión de Integrinas $\alpha\beta 3$ y Fibronectina en Interfase Placentaria Porcina. Velez C; Williamson, Delia; Sampedro F; Martin P; García M; Koncurat M. Argentina. La Plata. 2014. XVI Congreso y 13° Jornadas de Educación. Sociedad de Ciencias Morfológicas La Plata. Sociedad Cs Morfológicas La Plata.

✓ Estrógenos y Expresión de la Integrina $\alpha\beta 3$ y Fibronectina en la Interfase Feto-Placentaria durante la Gestación. Vélez C; Williamson D; Martin P; Koncurat M. Argentina. Río Cuarto. 2014. VII Congreso de Producción Porcina del Mercosur. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN 978-987-688-071-8

✓ Determinación de IL-1b E IL-10 Durante la Gestación Porcina. Velez C; Williamson D; García M; Koncurat M. Argentina. Río Cuarto. 2016. VIII Congreso de Producción Porcina del Mercosur. ISBN: 978-987-688-177-7.

✓ Estudio De Moléculas De Adhesión Que Participan En La Placentación Porcina. 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. 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.

✓ Osteopontina e Integrina $\alpha\beta 3$ en la Interfase Placentaria Porcina. Vélez C, Williamson D, Garro A, Lopez N, Koncurat M, Barbeito C. 2018. XI Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. Salta.

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

✓ Estudio de la expresión de integrinas y sus ligandos en la interfase feto-materna durante la gestación porcina. Vélez C.L.; Williamson D.M.; García M.G.; Barbeito C. y Koncurat, M.A. Mar del Plata, 2018. 41° Congreso Argentino de Producción Animal. REVISTA ARGENTINA DE PRODUCCIÓN ANIMAL VOL 38 SUPL. 1: 33-56 (2018). ISSN: 0326-0550.

✓ Interleukin-6 concentration in serum and placental extracts during porcine gestation. Gai R; Williamson D; Vélez C y Clauzure M. 2020. Medicina. Buenos Aires. Vol 80 N° V. pp 143. ISSN: 0025-7680.

✓ Efectos de los Estrógenos y la Progesterona en ovarios y placentas porcinas de 70 días de gestación. Marrón Y, Canovas M, Roth K, Signorelli L, García M, Vélez C, Viglierchio M, Williamson D y Yaful G. 2021. VI Jornadas Internacionales, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. INITRA.

✓ Estudio de Citoquinas Durante la Placentación Porcina. Vélez, C.L.; Williamson, D.M.; Koncurat, M.A.; Clauzure, M.; Gai, R.; Gastaldo, K.; Lopez, N. Vetec Revista Académica de Investigación, Docencia y Extensión de las Ciencias Veterinarias. Edición Especial I Jornada de Ciencia y Técnica y Extensión. IV Jornada Interinstitucional Facultad de Ingeniería- Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam. Vol. 2 N° 3 2021 E-ISSN 2683-9237

✓ Expresión de integrina $\alpha\beta 1$ y sus ligandos, osteopontina y vitronectina en distintos estadios de la placentación porcina. Williamson, D.M.; Koncurat, M.A.; Vélez, C.L.; García, M.G.; Bruni, M.A.; Garro, A.C.; Fernandez, L.; Lopez, N.; Alderete, S.; Gastaldo, K.; Montesino Vasquez, O. Vetec Revista Académica de Investigación, Docencia y Extensión de las Ciencias Veterinarias. Edición Especial I Jornada de Ciencia y Técnica y Extensión. IV Jornada Interinstitucional

Corresponde a Resolución N° 404/2024

Facultad de Ingeniería- Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam. Vol. 2 N° 3 2021 E-ISSN 2683-9237

- ✓ Expresión de vitronectina en la placentación porcina: resultados Preliminares. Quiroz Peralta J., Vélez C., Lopez N., Clauzure, M., García M., Williamson D. 2021. ISSN 1852-771X4. Rev. med. vet. (En línea) 2022, 101(2): 4 – 75
- ✓ Expresión del receptor de Il-6 en la placentación porcina: resultados preliminares. Gaii L.R., Williamson D.M., López N., Konkurat M.A., Vélez C.L., Clauzure M. ISSN 1852-771X4. Rev. med. vet. (En línea) 2022, 101(2): 4 – 75
- ✓ Galectinas durante la placentación porcina. Gaii, R.; Williamson, D.; Clauzure, M.; Barbeito, C.; García, M.; Ramos, S.; Sánchez F.; Sucurro A.; Cánovas L.; Marrón Y.; Lopez, N.; Konkurat, M.; Gastaldo, M.; Fernandez, L.; Viglierchio, M.C. y Vélez C. 2022. Vetec. Vol 3 N° 3. P58-59. E-ISSN 2683-9237
- ✓ Expresión de Galectina 3 en tejido placentario porcino. Resultados preliminares. Canovas L.; Benitez, V.; Roth, N.; Clauzure, M.; Williamson, D., García, M.; Viglierchio, M.C.; Sola, D.; Badiola, J.J.; Barbeito, C.; Vélez, C. Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80. ISSN 1852-771X
- ✓ Vitronectina e integrina $\alpha\beta 3$ en la interfase placentaria porcina. Canovas L.; Lopez N.; Vélez C.; Quiroz Peralta J.; Clauzure, M.; García M.; Williamson D. Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80. ISSN 1852-771X
- ✓ Inmunolocalización de receptores de estrógenos acoplados a proteína G en placentas Porcinas. Roth K.N.; Canovas M.L.; Etcheverry B.; Devaux L.; Clauzure M.; García M.G.; Lacolla D.V.; Velez C.L.; Viglierchio MdC.1Williamson D.M. Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80. ISSN 1852-771X

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

- ✓ Proyecto de investigación “Rol de la placenta en la preñez porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Facultad Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Res. N° 043/2000 C. D. mayo de 2000- mayo de 2004.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio de la respuesta inmune durante la gestación porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Universidad Nacional de La Pampa-. Res. N° 072/2004 C. S. marzo de 2005- marzo de 2008.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del papel de las IgG durante la gestación porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Facultad Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Res. N° 194/2004 C. D. junio de 2004- diciembre de 2006.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del rol de las integrinas durante la gestación porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Universidad Nacional de La Pampa-. Res Directorio ANPCYT N°: 092/2006.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio de la expresión de las integrinas durante la placentación porcina”. Directora: Dra. Mirta Konkurat. Res. 020/2008 CD. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam. Enero de 2008- Diciembre de 2010.
- ✓ Proyecto de investigación “Determinación del rol de la progesterona a través de sus receptores en útero y en placenta porcina”. Directora: Dra. Graciela Yaful. Res. UNRN 637/2010. Universidad Nacional de Río Negro.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio de moléculas de adhesión que participan en la placentación porcina”. Directora: Dra. Mirta Konkurat. Res. 360.11 CD. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam.
- ✓ Proyecto de investigación “Placentación Porcina”. Director: Dra. Mirta Konkurat. Universidad Nacional de La Pampa-. Res Directorio ANPCYT N°: 452/2012.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- ✓ Programa de investigación “Placentación Porcina”. Director: Dra Mirta Koncurat. Codirector: Dra Delia Williamson. Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLPam. Res. 311.17
- ✓ Proyecto de investigación “Expresión de integrina $\alpha 5\beta 1$ y sus ligandos, osteopontina y vitronectina en distintos estadios de la placentación porcina”. Directora: Dra. Delia Williamson. Res. 311.17 CD. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLPam.
- ✓ Proyecto de investigación “Galectinas durante la placentación porcina” Directora: Dra. Carolina Vélez y en carácter de investigadora la Dra Delia Williamson. Res. N° 179.2021.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del proceso proinflamatorio y su regulación durante la placentación porcina” Directora: Dra. Mariángeles Clauzure y en carácter de investigadora la Dra Delia Williamson. Res. N° 352.2022.
- ✓ Proyecto de investigación “Estudio del proceso proinflamatorio y su regulación durante la placentación porcina” Directora: Dra. Mariángeles Clauzure. (PICT 2019-3704)
- ✓ 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: Aún no se conocen por completo los mecanismos que permiten una gestación exitosa. La cerda posee un elevado índice de pérdida embrionaria/fetal. Los cambios en el ambiente uterino, que incluyen diferentes patrones de glicosilación, influirían en la implantación, interviniendo en la factibilidad de interacción molecular entre el endometrio y el *conceptus* y en el desarrollo y la viabilidad de los embriones/fetos. Es necesario profundizar las investigaciones de estos mecanismos en la reproducción porcina relacionándolos con diferentes características morfométricas tanto placentarias como fetales.

OBJETIVO GENERAL:

Estudiar el patrón de glicosilación del epitelio luminal y glandular endometrial y del trofoblasto, en diferentes etapas de la gestación porcina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Determinar la expresión de glicoconjugados en diferentes períodos de gestación, de cada unidad feto-materna, mediante tinciones histoquímicas diferenciales.
- ✓ Determinar el patrón de glicosilación de cada unidad feto-materna en diferentes períodos de gestación, mediante lectinhistoquímica.
- ✓ Establecer posibles relaciones entre la expresión de glicoconjugados y la presencia de moléculas de adhesión estudiadas en trabajos previos durante la gestación.
- ✓ Determinar el número, longitud y peso de los embriones/fetos en los períodos de gestación seleccionados.
- ✓ Determinar los pesos y longitud de las placentas.
- ✓ Relacionar los parámetros previamente mencionados con la ubicación del embrión/feto dentro del útero.

HIPÓTESIS:

La expresión de ciertos glicoconjugados estaría relacionada con la exitosa interacción molecular entre el endometrio y el *conceptus*.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO: Este proyecto aportará información necesaria para continuar comprendiendo los eventos moleculares involucrados en la aceptación del *conceptus* y la adhesión de las placentas para promover una gestación normal en esta especie polítopa de gran interés pecuario.

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS

Animales: Se utilizarán un total de 16 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 diferentes momentos de la gestación: período de post-implantación 20 dg (n=4), placentación temprana de 35 dg (n=4) y placentación media 60-70 dg (n=4). Además, se procesarán 4 muestras de endometrio provenientes de cerdas no gestantes (NG), para utilizarlas como control. Se determinará la edad gestacional de las placentas de acuerdo a la fecha de servicio registrada. Las etapas de gestación fueron seleccionadas de ese modo, ya que en ellas ocurren procesos moleculares y fisiológicos indispensables para una gestación exitosa.

Tracto reproductor: Los tractos reproductivos se lavarán con solución salina de Hank's (SSH), conteniendo 10.000 U/ml de penicilina G sódica, 10 mg/ml de sulfato de estreptomicina y 2,5 ug/ml de fungizona, manteniéndolos a 4°C hasta su procesamiento inmediato en el laboratorio. Se detectará la ubicación de los fetos en el borde anti-mesometrial de los cuernos uterinos comenzando del ovario izquierdo al cuerpo uterino y luego desde el ovario derecho al cuerpo uterino. Se realizará la toma de muestra de la interfase placentaria de cada unidad feto-materna, tomando ambos tejidos maternos y fetales en una misma muestra. Inmediatamente se la preservará para realizar técnicas histológicas. Dado el tipo de placenta, no invasiva, se podrá separar fácilmente el constituyente placentario materno del fetal ejerciendo tracción sobre estos tejidos y cada placenta fetal será extraída, pesada y medida su longitud. De cada feto se registrarán las medidas de peso y longitud.

Análisis de la estructura de la placenta y útero:

- **Técnica para microscopía óptica:** Las muestras de interfase placentaria luego de extraídas, se las colocará en formol bufferado al 10% para fijarlas con el fin de preservar la morfología y organización celular. Seguidamente se procederá con la técnica histológica de rutina para la preparación de cortes parafinados (Suvana et al., 2018). Brevemente, se deshidratarán las muestras con baterías de alcoholes de graduación creciente (70, 96 y 100 %), luego se aclararán con xileno y se incluirán en parafina. Se realizarán cortes de 4 um, aproximadamente, y se montarán en portaobjetos positivados. Con los cortes histológicos se realizará el estudio de la estructura placentaria y la detección de glicoconjugados. La observación se realizará a través de un microscopio óptico Leica DM500 (Alemania). Se tomarán imágenes con una cámara de alta definición Leica ICC50 W incorporada al microscopio y se procesarán en formato TIFF o JPG.

Los cortes parafinados para las diferentes técnicas histoquímicas que se realizarán, se las tratará de la siguiente manera: Los cortes se desparafinarán en dos baños con xilol al 100 % durante 20 minutos (20') cada uno; posteriormente se comenzará la hidratación del tejido sumergiendo una vez los preparados en soluciones decrecientes de alcohol en agua: al 100% (2'), al 96% y 70% (2'' cada uno). Se lavarán los cortes en dos baños de 5 min cada uno en buffer fosfato salino (PBS) a pH 7,4.

- **Tinciones histoquímicas:**

- **Tinción con Hematoxilina Eosina:** Se realizará la técnica tradicional de Hematoxilina y Eosina (Luna, 1968). Brevemente, a los cortes desparafinados se los sumerge 5' en agua tridestilada y luego en Hematoxilina 2'. Se corta la reacción en agua corriente tibia y se los deja

Corresponde a Resolución N° 404/2024

sumergidos por 5'. Seguidamente se los sumerge en Eosina por 10" y luego un pasaje en agua corriente tibia, para finalmente proceder a la técnica de deshidratado y montado para ser visualizados al microscopio óptico.

- **Tinción Alcian Blue:** Se determinarán, a través de este colorante de carácter básico, la presencia de mucopolisacáridos ácidos sobre las estructuras seleccionadas en diferentes periodos de gestación (Doan, 2024). Brevemente, a los cortes desparafinados se los sumerge por 30' en el colorante, lavando luego el excedente en 2 baños de 5' de PBS. Se contrasta esta coloración con rojo nuclear sólido y luego se procede a deshidratar para finalmente montar con bálsamo de Canadá. Los resultados positivos se observarán de color azul.

- **Tinción con Ácido Periódico de Schiff (PAS):** Con esta técnica se obtiene la visualización de los polisacáridos, mucopolisacáridos básicos, mucoproteínas, glicolípidos, fosfolípidos y quitina en color púrpura: PAS positivo (+). El colágeno se observará en color rosa y los núcleos de las células en azul. Primeramente, se realizará la preparación del reactivo de Schiff utilizando un kit comercial (Biopur). Luego, los cortes desparafinados e hidratados que se encuentran en agua destilada, se sumergirán en ácido periódico al 1 % durante 10'. Se lavarán con agua corriente, 10' y posteriormente por agua destilada. Se sumergirán en el reactivo de Schiff, 10' en un recipiente con tapa. Los portaobjetos se lavarán con abundante agua corriente y posteriormente se enjuagarán con agua destilada. Se realizará el contraste de los cortes con hematoxilina al 0,1% durante 1'. Finalmente se realizará el montaje con bálsamo de Canadá (Biopur).

Análisis de residuos glicosilados: Determinación de residuos glicosilados por lectinhistoquímica: Se determinará la presencia de residuos glicosilados sobre cortes parafinados de útero no gestante y tejido placentario de diferentes periodos gestacionales. Para ello se utilizarán kits comerciales (Lectin Kit, Vector Laboratories, Cat#BK-1000, RRID:AB_2336252) utilizando las siguientes lectinas: Concanavalia ensiformis (Con A), Dolichus biflorus (DBA), Pisum sativum (PSA), Ulex europaeus (UEA), Ricinus Communis (RCA120), Glycine max (SBA), Peanut Agglutinin (PNA), Wheat germ agglutinin (WGA), Rhodamine Griffonia simplicifolia lectin I (GSL I), Lens culinaris agglutinin (LCA), Phytohaemagglutinin - Erythroagglutinin (PHA-E), Phytohaemagglutinin - Leucoagglutinin (PHA-L), Succinyl-Wheat Germ Agglutinin (S-WGA), Artocarpus integrifolia (AIA) y Maackia amurensis (MAA). Su origen y especificidad de unión a residuos glicosilados se detalla en la Tabla I.

Lectina	Acrónimo	Afinidad ^a
Concanavalia ensiformis	CON-A	β-D-Man; α-D-Glc
Dolichos biflorus DBA α-D-GalNAc	DBA	α-D-GalNAc
Pisum sativum	PSA	α-D-Glc; α-D-Man
Ulex europaeus	UEA-I	L-Fuc
Ricinus communis	RCA-I	β-Gal
Glycine max	SBA	α-D-GalNAc; β-D-GalNAc
Arachis hypogaea	PNA	β-D-Gal (β1-3) > D-GalNAc
Triticum vulgare	WGA	β-D-GlcNAc; NeuNAc
Rhodamine Griffonia simplicifolia lectin I	GSL-I	α-Gal
Lens culinaris Agglutinin LCA α-Man	LCA	α-Man
Phaseolus vulgaris erythroagglutinin	PHA-E	Galβ4GlcNAcβ2Manα6(GlcNAcβ4,(GlcNAcβ4Manα3)Manβ4
Phaseolus vulgaris leucoagglutinin	PHA-L	Galβ4GlcNAcβ2Manα6(GlcNAcβ4,(GlcNAcβ4Manα3)Manβ4
Succinyl-Wheat Germ Agglutinin	SWGA	β1-4-D- GlcNAc
Artocarpus integrifolia	AIA	α-Gal
Maackia amurensis	MAA	NeuAca2,3Gal-b1,4GlcNAc

Tabla I: Lectinas para determinación de residuos glicosilados. ^aGal, galactose; GalNAc, N-acetylgalactosamine; Glc, glucose; GlcNAc, acetylglucosamine; L-Fuc, L-fucose; Man, mannose; NeuNAc, N-acetylneuraminic acid (sialic acid).

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- **Técnica de Lectinhistoquímica:** a los preparados desparafinados se los sumergirá con PBS e incubarán con solución de peróxido de hidrógeno al 3% (para inactivar la peroxidasa endógena) 20'. Se lavarán 2 veces con PBS 5 minutos cada uno (en adelante 2x5'). Se bloquearán las uniones inespecíficas mediante la incubación durante 30 minutos con albúmina sérica bovina (BSA) en PBS a temperatura ambiente. Sin lavar se agregará la lectina previamente diluída (dilución de trabajo 1:100) y se incubará a 4 C° toda la noche. Al retirarlos del refrigerador y luego de atemperar los preparados, se lavarán con PBS (2x5') y se incubarán con streptavidina-peroxidasa (Cytoscan TM HRP Detection System, Cell Marque, USA) durante 30 minutos. Luego de un último lavado con PBS (2x5'), se agregará la solución cromógena diaminobenzidina y se dejará actuar 15' (DAB Substrate Kit, Cell Marque). Para detener la reacción, se sumergirán los preparados histológicos en baño de agua corriente. Los preparados se contrastarán con hematoxilina activada por 1' (Biopur, Argentina) y se realizará el viraje del colorante con agua corriente tibia durante 10'. Por último, se colocarán los preparados en PBS y se procederá con la deshidratación mediante pasajes por alcoholes de graduación creciente y la aclaración con xilol para el montaje con Bálsamo de Canadá (Canadax®, Biopur). El control negativo se tratará igual que las muestras con el reemplazo de la lectina por PBS.

Análisis de los resultados

Se determinará la presencia y distribución de glicoconjugados básicos y ácidos, en el epitelio uterino y trofoblasto de cada unidad feto-materna de cerdas de los períodos de gestación indicados y en el epitelio uterino de cerdas no gestantes, identificándose los básicos de coloración roja (PAS) y los ácidos de coloración azul (Alcian Blue).

Se observará la totalidad de los preparados con aumentos de 4X, 10X y 40X (microscopio óptico Leica DM500, Alemania) y se realizará un análisis semicuantitativo. Los resultados de la expresión de las moléculas determinadas por lectinhistoquímica, serán analizados de la siguiente manera: como leve (+), moderada (++) o intensa (+++); la ausencia de marcaje se registrará como (-) y el marcaje inconstante como (Inc). La valoración de la intensidad de la coloración será realizada por dos evaluadores en forma ciega e independiente.

Se llevarán a cabo análisis descriptivos (media, mediana, desviación estándar, rango) y comparativos para determinar la longitud, peso y número de embriones/fetos, así como el peso y longitud de las placentas (ANOVA para comparar períodos o pruebas t de Student para comparar dos períodos).

Al realizar relaciones entre variables los métodos a utilizar serán: Análisis de correlación (Coeficientes de Pearson o Spearman). Análisis de regresión (Regresión múltiple para evaluar el impacto de variables independientes como peso, longitud de placentas y ubicación de los embriones/fetos en el útero, sobre variables dependientes como peso y longitud de embriones/fetos).

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

Se espera que los conocimientos que aporte este trabajo contribuyan a comprender los mecanismos fisiológicos que participan en la preñez de la cerda y que en un futuro permitan originar estrategias para incrementar la tasa de sobrevivencia embrionaria/fetal en esta especie de alto valor productivo.

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.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

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 muestras				x	x	X		x	x	x	
Toma de datos morfométricos				x	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 muestras		x	x	x	x	X	x				
Análisis de datos morfométricos			x	x	x	X	x				
Pruebas histoquímicas					x	X	x	x	x		
Presentación en Congresos/Publicaciones							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
Pruebas histoquímicas		x	x	x	x						
Lectinhistoquímica				x	x	X	x	x	x		
Presentación en Congresos/Publicaciones							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
Lectinhistoquímica		x	x	x	x	x	x	x			
Análisis estadístico						x	x	x	x	x	
Presentación en Congresos/Publicaciones							x	x	x	x	x
Informe de avance											x

Año 5

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
Análisis estadístico	x	x	x	x	x						
Presentación en Congresos/Publicaciones			x	x	x	x	x	x	x		
Redacción de Informe de final								x	x	x	x

Corresponde a Resolución N° 404/2024

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

El lugar de trabajo (CeBioCeM) cuenta con el Área de Biología Celular y Molecular, el Área Microscopía e Inmunohistoquímica y el Área Procesamiento de Imágenes que poseen la infraestructura, los servicios y el equipamiento necesarios para la realización del plan de trabajo. Para la toma de muestra las mesadas necesarias y el instrumental acorde, como las balanzas analíticas. Los equipamientos necesarios para la confección de tacos y posterior montaje al portaobjetos (micrótopo, estufa, baño maría). Todas las muestras se observarán con un microscopio óptico Leica DM500 (Alemania), se tomarán imágenes con una cámara de alta definición Leica ICC50 W y procesarán en formato TIFF o JPG. Se cuenta además con los equipamientos e insumos necesarios para las pruebas histoquímicas y lectinhistoquímicas.

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual)

Año 1

- ✓ Bienes de Consumo\$ 30000
- ✓ Otros (especifique) presentación congresos/jornadas.....\$ 20000
- ✓ **Total..... \$ 50000**

Año 2

- ✓ Bienes de Consumo\$ 40000
- ✓ Otros (especifique) presentación congresos/jornadas.....\$ 30000.
- ✓ **Total..... \$ 70000**

Año 3

- ✓ Bienes de Consumo\$ 60000
- ✓ Otros (especifique)\$ 20000
- ✓ **Total..... \$ 80000**

Año 4

- ✓ Bienes de Consumo\$ 70000
- ✓ Otros (especifique)\$ 30000
- ✓ **Total..... \$ 100000**

Año 5

- ✓ Bienes de Consumo\$ 30000
- ✓ Otros (especifique) presentación/publicación.....\$ 70000
- ✓ **Total..... \$ 100000**

Total 5 años

- ✓ Bienes de Consumo\$ 230000
- ✓ Otros (especifique)\$ 170000
- ✓ **Total..... \$ 400000**

Corresponde a Resolución N° 404/2024

** 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

- Acuña F, Carril J, Portiansky EL, Flamini MA, Miglino MA, Barbeito CG. Placental glycotype of the caviomorph rodent *Lagostomus maximus* and its evolution within Eutheria. *Journal of Morphology*. 2023 Feb 4. doi: 10.1002/jmor.21566. Epub ahead of print. PMID: 36738449.
- Ambrosi, M., Cameron N. R. & Davis, B. G. (2005). Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 3(9), 1593-1608. <https://doi.org/10.1039/b414350g>
- Aplin, J. D. (1999). MUC-1 glycosylation in endometrium: possible roles of the apical glycocalyx at implantation. *Human Reproduction*, 14(suppl. 2), 17-25. https://doi.org/10.1093/humrep/14.suppl_2.17
- Bazer FW, Johnson GA. Pig blastocyst-uterine interactions. *Differentiation*. 2014; 87, 52–65.
- Bojic-Trbojevic, Ž, Krivokuca M. J., Stefanoska, I., Kolundžic, N., Vilotic, A., Kadoya, T. & Vicovac, L. (2018). Integrin $\beta 1$ is bound to galectin-1 in human trophoblast. *J. Biochem*, 163(1), 39–50 <https://doi.org/10.1093/jb/mvx061>
- Borowski, S., Tirado-Gonzalez, I., Freitag, N., Garcia, M. G., Barrientos, G. & Blois, S. M. (2020). Altered glycosylation contributes to placental dysfunction upon early disruption of the NK cell-DC dynamics. *Frontiers Media*, 11, 1-10 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01316>
- Cassina, B., Alfonso, A., Cristofolini, A., Fiorimanti, M. & Merkis, C. (2019). Análisis vascular de la placenta porcina a lo largo de la gestación, *Ab Antus*, Edición Especial, 163.
- Clark, G. F. (2014). The role of glycans in immune evasion: the human fetoembryonic defense system hypothesis revisited. *Molecular human reproduction*, 20(3), 185–199. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat064>
- Clausen, H., Bennet, E. & Dabelsteen, E. (1992). Carbohydrates of the cell surface: molecular aspects of glycosyltransferases and their genes. *APMIS. Supplementum*, 27, 9-17. PMID: 1520530.
- Cohen, S. Freijo, R. O., Petcoff, G. M., Portiansky, E. L., Barbeito, C. G., Macchi, G. J. & Díaz, A. O. (2016). Glicoconjugados del ovario de *genypterus blacodes* y su importancia en la biología reproductiva. *Ciencias Morfológicas*, 18(1), 1-9.
- Cristofolini, A., Sanchis, G., Moliva, M., Alonso, L., Chanique, A., Koncurat, M. & Merkis, C. (2013). Cellular remodelling by apoptosis during porcine placentation. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(4), 584–590. <https://doi.org/10.1111/rda.12130>
- Dennis, J. W., Granovsky, M. & Warren, C. E. (1999a). Glycoprotein, glycosylation and cancer progression. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1473(1), 21-34. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00167-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00167-1)
- Dennis, J. W., Granovsky, M. & Warren, C. E. (1999b). Protein Glycosylation in development and disease. *BioEssays* 21(5), 412-421. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-1878\(199905\)21:5%3C412::AID-BIES8%3E3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(199905)21:5%3C412::AID-BIES8%3E3.0.CO;2-5)
- Doan Carolyn. En pag web: <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/special-stains-which-one-why-and-how/>

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2021.02103.x>.
- Fernández PE, Diessler ME, Pachame A, Ortega HH, Gimeno EJ, Portiansky EL and Barbeito CG. Intermediate filament proteins expression and carbohydrate moieties in trophoblast and decidual cells of mature cat placenta *Reproduction in Domestic Animals* 49:263-269.2014.
- Ferretti, V. A. (2014). Estudio de la expresión de mucinas epiteliales de carbohidratos asociados y de Romboide 2 (Rhbd2) en ratas adultas y embrionarias [tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata]. Repositorio Institucional UN <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/35233>
- Garlow, J. E., Ka, H., Johnson, G. A., Burgharatt, R. C., Jaeger, L. A. & Bazer, F. W. (2002). Analysis of Osteopontin at the Maternal – Placental Interface in Pigs. *Biology of Reproduction*, 66(3), 718- 725. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.3.718>
- Geisert, R., Whyte, J., Meyer, A., Mathew, S., Juarez, M., Lucy, M., Prather, R. & Spencer, T. (2017). Rapid conceptus elongation in the pig: An interleukin 1 beta 2 and estrogen-regulated phenomenon. *Molecular Reproduction and Development*, 84(9), 760-774 <https://doi.org/10.1002/mrd.22813>
- Gimeno, E. J. & Barbeito, C. G. (2004). Glicobiología, una nueva dimensión para el estudio de la Biología y de la Patología. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, 58, 6-34. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/29379>
- Hang, Q., Isaji, T., Hou, S., Zhou, Y., Fukuda, T. & Gu, J. (2016). N-glycosylation of integrin alpha5 acts as a switch for EGFR-mediated complex formation of integrin $\alpha 5 \beta 1$ to $\alpha 6 \beta 4$. *Scientific Reports*, 6, 1-15. <https://doi.org/10.1038/srep33507>
- Ibeto, L., Antonopoulos, A., Grassi, P., Pang, P. C., Panico, M., Bobdiwala, S., Al-Memar, M, Davis, P., Davis, M., Taylor, J. N., Almeida, P., Johnson, M. R., Harvey, R., Bourne, T., Seckl, M., Clark, G., Haslam, S. M. & Dell, A. (2020). Insights into the hyperglycosylation of human chorionic gonadotropin revealed by glycomics analysis. *PLoS One* 15(2), 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228507>
- Isaji, T., Sato, Y., Zhao, Y., Miyoshi, E., Wada, Y., Taniguchi, N. & Jianguo, G. (2006). N-glycosylation of the beta-propeller domain of the integrin alpha5 subunit is essential for $\alpha 5 \beta 1$ heterodimerization, expression on the cell surface, and its biological function. *Journal of Biological Chemistry*, 281(44), 33258–33267. <https://doi.org/10.1074/jbc.M607771200>.
- Jamil, M., Kridli, R. T., Ngo, B., Liu, X., Khalaj, K., Tayade, C., & Bartlewski, P. M. (2017). The expression of autophagy-related genes Atg9a and Atg9b in normally developing and arresting porcine conceptuses on gestational days 20 and 50. *Integrative Journal of Veterinary Biosciences*, 1, 1-8.
- Jennewein, M. F., Goldfarb, I., Dolatshahi, S., Cosgrove, C., Noelette, F. J., Krykbaeva, M., Das, J., Sarkar, A., Gorman, M. J., Fischinger, S., Boudreau, C. M., Brown, J., Cooperrider, J. H., Aneja, J., Suscovich, T. J., Graham, B. S., Lauer, G. M., Goetghebuer, T., Marchant, A., Lauffenburger, D., Kim, A. Y., Riley, L. E, ... Alter, G. (2019). Fc glycan-mediated regulation of placental antibody transfer. *Cell*, 178(1), 202–215 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.044>
- Jones, C.J.P., Dantzer, V., Leiser, R. and Krebs, C. Localization of glycans in the placenta: a comparative study of epitheliochorial, endotheliochorial, and haemomonochorial placentation. *Microscopy Research and Technique*, December 1997; vol. 38, number 1-2, pp. 100-114.

Corresponde a Resolución N° 404/2024

- Luna L. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces. New York. Toronto. McGraw-Hill. 1968. 40 p
- Malopolska MM, Tuz R, Schwarz T, Ekanayake LD, D'Ambrosio J, Ahmadi B, Nowicki J, Tomaszewska E, Grzesiak M, Bartlewski PM. Correlates of reproductive tract anatomy and uterine histomorphometrics with fertility in swine. *Theriogenology*. 2021 Apr 15;165:44-51. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.02.007. Epub 2021 Feb 11. PMID: 33611173.
- Moore, T., Williams, J. M., Becerra-Rodriguez, M. A., Dunne, M., Kammerer, R. & Dveksler, G. (2022). Pregnancy-specific glycoproteins: evolution, expression, functions and disease associations. *Reproduction*, 163(2), 11–23 <https://doi.org/10.1530/rep-21-0390>
- Pérez Balderas, F.M. Empleo de cicloadiciones 1,3- bipolares y adiciones tipo Michael como nuevas metodologías para la síntesis de neoglicoconjugados multivalentes. Estudio de afinidad lectinas. Tesis Doctoral, Editorial de la Universidad de Granada, 2005. ISBN: 84-338-3598x
- Rider, V., Kimler, B. F. & Justice, W. M. (1998). Progesterone-growth factor interactions in uterine stromal cells (minireview). *Biology of Reproduction*, 59(3), 464-469. <https://doi.org/10.1095/biolreprod59.3.464>
- Robajac, D., Masnikosa, R., Vanhooren, V., Libert, C., Mikovic, Z. & Nedic, O. (2014). The N-glycan profile of placental membrane glycoproteins alters during gestation and aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 138, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2014.01.010>
- Ryan, S. O. & Cobb, B. A. (2012). Roles for major histocompatibility complex glycosylation in immune function. *Seminars in Immunopathology*, 34(3), 425–441 <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0309-9>
- Sharon, N. (1993). Lectin-carbohydrate complexes of plants and animals: an atomic view. *Trends in Biochemical Sciences*, 18(6), 221-226. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(93\)90193-Q](https://doi.org/10.1016/0968-0004(93)90193-Q)
- Suvarna, K., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's Theory and Practice of Histological, Techniques* (8th edn.) Elsevier Ltd.
- Taylor, M. E. & Drickamer, K. (2003). *Introduction to Glycobiology*. Oxford University Press.
- Van der Lende, T. & Van Rens, B. T. (2003). Critical periods for foetal mortality in gilts identified by analyzing the length distribution of mummified foetuses and frequency of non- fresh stillborn piglets. *Animal Reproduction Sciences*, 75(1-2), 141-150. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00229-4](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00229-4)
- Varki, A., Cummings, R. D., Esko, J. D., Stanley, P., Hart, G. W., Aebi, M., Mohnen, D., Kinoshita, T., Packer, N. H., Prestegard, J. H., Schnaar, R. L., & Seeberger, P. H.(eds.). (2009). *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor
- Vélez, C. L. (2017). Integrinas y su regulación por el sistema inmune durante la gestación porcina [tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata. Repositorio Institucional UN <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/62749>
- Vélez C, Clauzure M, Williamson D, Garcia M, Koncurat M and Barbeito C. (2023). Are integrins and ligands correlated at pig placental interface during pregnancy? *Reproduction and Fertility*. Vol 4 N° 1. P1-13. e 220079. Doi: <https://raf.bioscientifica.com/view/journals/raf/4/1/RAF-22-0079.xml>
- Williamson, D. M. (2011) Estudio de la presencia de integrinas, y su relación con los niveles de esteroides e interleuquinas, durante la placentación porcina [tesis doctoral,

Corresponde a Resolución N° 404/2024

Universidad Nacional de La Plata]. Repositorio Institucional UN
<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/1591>

- Wooding, P., Burton, G. (2008). Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-78797-6>
- Zubeldía, D. Estudio ultraestructural y de residuos glicosilados en la placenta porcina. Tesis de Maestría, Editorial de la Universidad Nacional de Río Cuarto, 2007.

Hoja de firmas