

Detección de glicoconjugados en las vellosidades placentarias porcinas de diferentes períodos gestacionales (Detection of glycoconjugates in porcine placental villi from different gestational periods)

Sanchis, Eva Gabriela: Departamento Patología Animal, Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nac 36 km 601, CP 5800 Río Cuarto, Córdoba, Argentina, gsanchis@ayv.unrc.edu.ar | **Merkis, Cecilia Inés:** Area de Microscopía Electrónica, Universidad Nacional de Río Cuarto, cmerkis@ayv.unrc.edu.ar | **Koncurat, Mirta Adriana:** Area de Microscopía Electrónica, Universidad Nacional de Río Cuarto, mkoncurat@ayv.unrc.edu.ar

Resumen

La placenta porcina es epiteliocorial, no invasiva, difusa, plegada y adecidua. Dado que los residuos sacáridos desempeñan funciones de reconocimiento y adhesión celular, su presencia en la interfase placentaria es de sumo interés. El objetivo fue investigar los glicoconjugados presentes en las vellosidades placentarias porcinas de la interfase en diferentes períodos gestacionales, con el fin de ampliar nuestros conocimientos sobre los mecanismos involucrados en la gestación y placentación. Se utilizaron cerdas mestizas provenientes de frigoríficos de la zona de Río Cuarto, Argentina (33,11° S; 64,3° O), obteniéndose placentas de: ±28 (n=2), ±55 (n=2), ±60 (n=1), ±70 (n=1) y ±114 días de preñez (n=3) recolectadas entre 2005 y 2007. Se estudió la estructura placentaria por microscopía óptica y la expresión de glicoconjugados en la placenta mediante lectinas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína. Se detectaron valores positivos (1) y abundantes (2) de ácido siálico en los períodos analizados. Los oligosacáridos de unión a *Phaseolus vulgaris* leucoaglutinina, eritroaglutinina y fitohemoaglutinina presentaron mayor expresión en períodos intermedios de gestación, con intensidad abundante (2) y cuantiosa (3). Los valores más elevados de α -galactosa, β -galactosa y N-acetilgalactosamina se observaron a los 55 y 70 días. Glucosa y manosa fueron los residuos más comúnmente encontrados en todos los períodos seleccionados. Estos hallazgos muestran similitud con otras especies con placenta epiteliocorial, variando en intensidad y período gestacional. Concluimos que los residuos glicosilados analizados presentan marcación variable en las vellosidades

placentarias porcinas a lo largo de la gestación, siendo glucosa y manosa los residuos de mayor frecuencia de aparición.

Palabras clave: placenta | lectinas | glicoconjugados | porcinos.

Abstract

Porcine placenta is epitheliochorial, non invasive, diffuse, folded and non-decidua. Since saccharides are involved in cell-cell recognition and their type and presence in the placental interface is of particular interest. The aim of the present work was to investigate the glycoconjugates present in the placental villi forming the interface of different gestational periods to improve our knowledge about certain mechanisms involved in the maintenance of gestation and placentation, indispensable for pregnancy to succeed. Cross-bred swines from Río Cuarto, Argentina (33, 11° S, 64, 3° O) slaughterhouses were used. The following placentas collected between 2005 and 2007 were obtained: ±28 (n=2), ±55 (n=2), ±60 (n=1), ±70 (n=1) and ±114 days of pregnancy (n=3). Placental structure was studied by light microscopy and the expression of glycoconjugates by lectin histochemistry using lectins conjugated with fluorescein isothiocyanate. Positive (1) and abundant (2) values of sialic acid were detected, while oligosaccharides bounding PHA-P, PHA-L y PHA-E showed their highest expression in intermediate periods of gestation, with abundant (2) and strong (3) intensities. α -gal, β -gal and galNAc labeled the most at Days 55 and 70. Glucose and mannose were the most commonly found residues in porcine placenta, being present in every analyzed period. These findings are similar to those informed in several animal species having epitheliochorial placenta, despite of differences in the occurrence and intensity. The studied saccharides showed variation of detection in porcine placental villi throughout gestation. Glucose and mannose were more frequent than the rest of the glycoconjugates analyzed in the present study.

Keywords: placenta | lectins | glycoconjugates | pigs.

INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva en el cerdo está influenciada por la pérdida altamente variable de potenciales lechones durante el curso de la gestación (Dzuik, 1987; Lawrence, 1993; Pope, 1994, Vonnahme *et al.*, 2002). En dicha especie, el diálogo existente entre el *conceptus* y la madre durante la implantación y el desarrollo placentario, sería

crucial para la supervivencia embrionaria en estadios tempranos (Szafranska *et al.*, 2004), donde la mortalidad embrionaria temprana sin causa específica está situada entre un 30 y un 40%, observándose que la mayoría de las pérdidas ocurren antes del día 30 de gestación (Pope, 1994). En nuestra región dicho valor se extiende hasta un 50-52% (Bosh *et al.*, 2001).

En cerdos, la placenta es del tipo epiteliochorial, no invasiva, difusa, plegada y adecidua (Amoroso, 1952; Dantzer, 1985; Leiser and Kaufmann, 1994). El contacto entre el *conceptus* y el endometrio depende, por ende, de precisas interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular, mediadas por receptores celulares de superficie y sus ligandos (Rashev *et al.*, 2005), lo que determinaría el éxito de la preñez.

Durante el desarrollo de la placenta, la composición estructural de los carbohidratos de las superficies celulares cambia dramáticamente, jugando los mismos un importante rol en eventos de reconocimiento y adhesión celular (Ambrosi *et al.*, 2005; Gimeno y Barbeito, 2004). Los hidratos de carbono implicados en dichas funciones se encuentran unidos covalentemente a proteínas o lípidos, dando lugar a moléculas denominadas glicoconjugados (Gimeno y Barbeito, 2004; Pérez Balderas, 2005) que se unen específicamente a lectinas, permitiendo su detección. La presencia de tales residuos en la interfase materno-fetal porcina es de fundamental importancia, ya que permitirían las interacciones entre los componentes placentarios fetales y maternos, dado el tipo de placenta epiteliochorial (Koncurat *et al.*, 2004a; Sanchis *et al.*, 2005).

La hipótesis del presente trabajo fue que los residuos glicosilados del trofoblasto y del epitelio uterino ubicados en la interfase feto-materna porcina posibilitarían la conformación y mantenimiento de la placenta epiteliochorial necesaria para una preñez exitosa.

El objetivo del presente trabajo fue investigar los residuos glicosilados presentes en la interfase materno-fetal de placentas porcinas, particularmente en las vellosidades, en diferentes períodos gestacionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con cerdas mestizas de diferentes estadios gestacionales provenientes de frigoríficos y criaderos de las zonas de Río Cuarto, Argentina (33,11° S; 64,3° O) destinadas a faena y libres de enfermedad, de acuerdo al examen clínico y *postmortem* realizado.

Se procesaron 9 tractos reproductivos provenientes de diferentes períodos gestacionales. Inmediatamente después de obtenidos, se

lavarón con solución salina de Hank's (SSH) (Gibco) conteniendo 10.000 U/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomina y 2.5 µg/ml de fungizona y se mantuvieron a 4°C hasta su procesamiento.

Para la toma de muestras placentarias se procedió a la detección por palpación de los embriones/fetos, se realizó un corte del lado anti-mesometrial de los cuernos uterinos y abertura longitudinal de los mismos. Se extrajeron los embriones/fetos de ambos cuernos y se

determinó la edad gestacional de los mismos en función de su longitud céfalo-caudal (Marrable, 1971). Se obtuvieron placentas de los siguientes estadios gestacionales: ±28 (n=2), ±55 (n=2), ±60 (n=1), ±70 (n=1) y ±114 días de preñez (n=3).

Obtención de cortes histológicos y Análisis de la estructura placentaria

Se tomaron porciones de tejido placentario de ±6 mm³ y se fijaron con formol salino tamponado. Se deshidrataron con baterías de alcoholes de graduación creciente, para ser incluidos en parafina. Se realizaron cortes seriados de ±4 µm con un micrótopo (Microm) y se montaron de a 3-4 cortes sobre cada portaobjeto. Previo al montaje, los cortes fueron pasados por un recipiente con agua destilada a 45°C durante 10 min, para evitar plegamientos de los mismos. Los portaobjetos con los cortes se colocaron sobre una plancha termostatazada a 40°C durante 15 h y se guardaron toda la noche a 37°C en estufa, para lograr el secado completo de los mismos. Posteriormente, los tejidos se desparafinaron y rehidrataron mediante baterías de alcoholes de graduación decreciente.

Para el reconocimiento de estructuras tisulares, en particular de las vellosidades placentarias sobre las cuales se llevó a cabo el estudio de glicoconjugados, los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina y tinción tricrómica de Masson.

Detección de residuos glicosilados por lectinohistoquímica

Se utilizó un panel de 9 lectinas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína (FITC). Las lectinas fluoresceinadas (PHA-E, AIA, PHA-L y MAA de EY Laboratorios, San Mateo, CA, USA, y PHA-P, PSA, Con-A, PNA y VFA de Sigma, Poole, UK -ver Cuadro 1 para sus principales características) se diluyeron a 1 mg/ml de agua destilada, se fraccionaron de a 100 µl en eppendorf y se mantuvieron a -20°C, envueltas en papel de aluminio para preservarlas de la luz. La concentración de trabajo elegida fue de 100 µg/ml.

Los portaobjetos se incubaron en cámara húmeda con una gota grande de la lectina conjugada con FITC sobre el tejido y cubriendo los mismos con parafilm "M" (Laboratory film- American National™). Se dejaron durante 1 h a temperatura ambiente y en oscuridad, para evitar la pérdida de fluorescencia debido al estímulo de la luz y se lavaron con PBS de Sörensen bajo las mismas condiciones.

Se observaron con un microscopio epifluorescente Axiophot (Carl Zeiss, Alemania) y se adquirieron las imágenes con una cámara Canon Powershot G6 7.1 megapixels (Canon, Japón).

Los resultados de la técnica lectinohistoquímica se expresaron en forma semicuantitativa, determinando que: 3 (+++) fluorescencia cuantiosa, 2 (++) fluorescencia abundante, 1 (+) fluorescencia positiva y 0 (-) fluorescencia negativa o ausencia de fluorescencia.

Cuadro 1: Lectinas usadas en este estudio y sus principales características

Acrónimo	Fuente	Principal especificidad
MAA	<i>Maackia amurensis</i>	ácido siálico
PHA-L	<i>Phaseolus vulgaris</i> (leucoaglutinina)	oligosacáridos
PHA-E	<i>Phaseolus vulgaris</i> (eritroaglutinina)	Oligosacáridos
PHA-P	<i>Phaseolus vulgaris</i> (fitohemoaglutinina)	Oligosacáridos
AIA	<i>Artocarpus integrifolia</i>	α -galactosa
PNA	<i>Arachis hipogaea</i>	β -galactosa, NAcgalactosamina
PSA	<i>Pisum sativum</i>	α -manosa
Con-A	<i>Canavalia ensiformis</i>	α -manosa, α -glucosa
PSA	<i>Vicia faba</i>	manosa, glucosa

Análisis de datos

Los resultados relacionados a los cambios en la estructura tisular y a la marcación de glicoconjugados de la placenta porcina fueron de tipo descriptivo, dado que para cada tratamiento se dispuso de un número de muestras pequeño (Mosteller and Tukey, 1982).

RESULTADOS

El análisis de la estructura placentaria con las técnicas de hematoxilina-eosina y tricrómica de Masson permitió observar las distintas estructuras morfológicas tisulares características de la

placenta epiteliocorial, las cuales se muestran en las Figuras 1 y 2, respectivamente.

Figura 1: Placenta de 28 días de gestación, teñida con hematoxilina-eosina. **IFM:** interfase feto-materna; **F:** fetal; **Mat:** materno; **GI:** glándulas uterinas; **vs:** vaso sanguíneo (X 100).

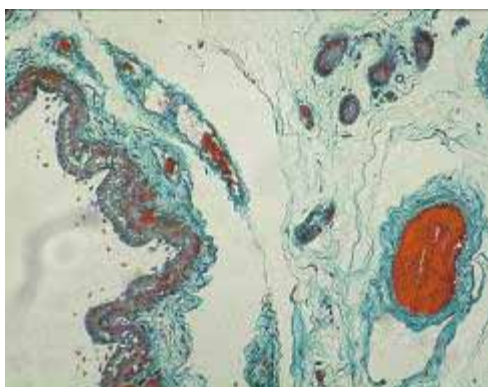
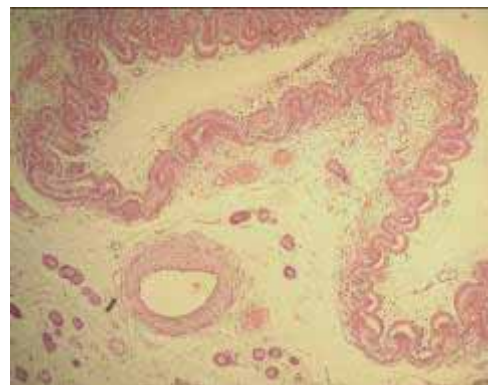


Figura 2: Placenta de 28 días de gestación, teñida con tricrómica de Masson. **IFM:** interfase feto-materna; **F:** fetal; **Mat:** materno; **GI:** glándulas uterinas; **vs:** vaso sanguíneo (X 200).

Los resultados de la técnica lectinhistoquímica llevada a cabo sobre el estudio de glicoconjugados en las vellosidades placentarias se muestran en el Cuadro II.

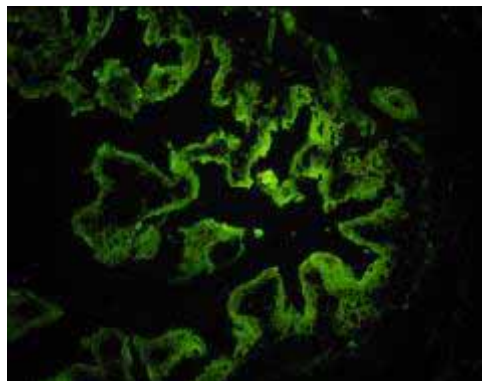
Cuadro 2: Fluorescencia detectada con diferentes lectinas sobre las vellosidades placentarias porcinas de diferentes períodos gestacionales

	28	55	60	70	114
MAA	1	2	ND	ND	1
PHA-L	1	3	2	3	3
PHA-E	0	3	2	3	2
PHA-P	0	2	2	ND	1
AIA	1	2	1	3	1
PNA	1	2	ND	2	1
PSA	1	2	2	1	1
Con-A	3	3	2	3	2
VFA	2	3	2	2	ND

Fluorescencia: 0: negativa; 1: positiva; 2: abundante; 3: cuantiosa

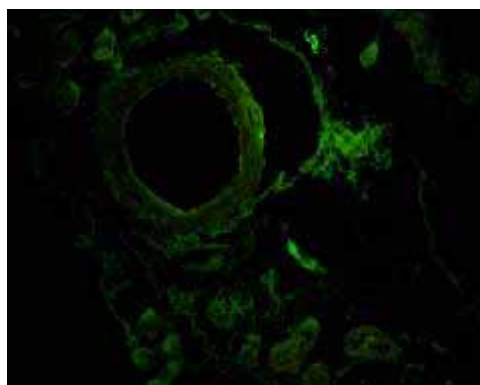
La presencia de ácido siálico fue demostrada a través de MAA en los períodos gestacionales analizados. Las intensidades de fluorescencia detectadas fueron positiva (1) al inicio y al final de la gestación y abundante (2) en el período de 55 d (Figura 3).

Figura 3: Marcaje fluorescente (+) obtenido con **MAA** (100 µg) sobre vellosidad de tejido placentario a término (114 días) (X 200).



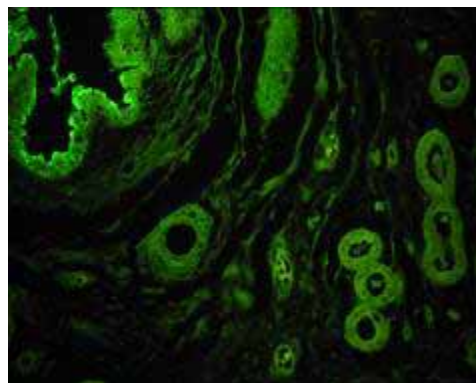
Los oligosacáridos de unión a PHA-L estuvieron presentes en las vellosidades placentarias de todos los estadios gestacionales estudiados, con valores elevados a partir de los 55 d de gestación en que se detectó fluorescencia cuantiosa (3), repitiéndose dicho valor a los 70 y 114 d de preñez. PHA-E y PHA-P marcaron a partir de 55 d, encontrándose luego valores más elevados con PHA-E que con PHA-P a los 55 y 114 d de preñez (Figura 4).

Figura 4: Marcación homogénea negativa (0) de un tejido placentario de 28 días de gestación, enfrentado con **PHA-P** (100 µg). Además se observa el endotelio vascular con fluorescencia abundante (++) en zonas (X 200).



Se observaron valores similares de marcación en los residuos galactosilados, reconocidos por AIA y PNA, ver Figuras 5 y 6 respectivamente, salvo a los 70 d en que se observó mayor marcación con AIA. Los valores más elevados para ambas lectinas se presentaron en períodos intermedios de gestación, a los 55 y 70 d.

Figura 5: Placenta porcina de 70 días de gestación enfrentado con **AIA** (100 µg), mostrando fluorescencia cuantiosa (+++) en vellosidad. También puede observarse marcación abundante (++) en glándulas, interior de glándulas y endotelio vascular (X 200).



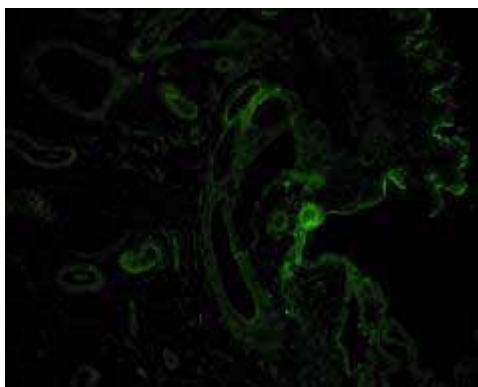


Figura 6: Placenta de 70 días de preñez, con marcación abundante (++) con **PNA** (100 µg) en vellosidad. Puede apreciarse también marcación negativa (-) en endotelio y epitelio glandular (X 100).

Los residuos de manosa y glucosa estuvieron presentes en las vellosidades placentarias de cada período gestacional analizado en este trabajo. Los valores más elevados detectados por PSA se mostraron a los 55 y 60 d. Resultados positivos (1) sólo se encontraron con PSA. Sin embargo, Con-A y VFA marcaron en forma abundante (2) o cuantiosa (3) en todos los períodos observados, como se muestra en las Figuras 7 y 8, respectivamente.

Figura 7: Placenta de 70 días de gestación, mostrando marcación homogénea cuantiosa (+++) con **Con-A** (100 µg) en vellosidad. Además se observa fluorescencia abundante (++) en glándulas (X 200).

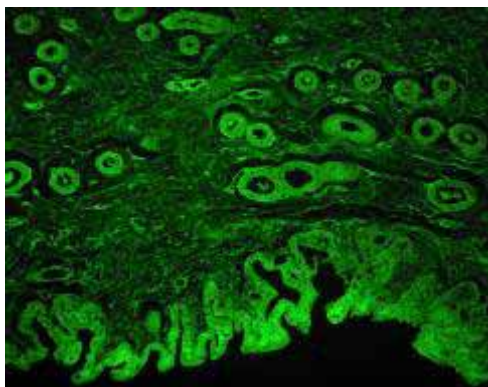
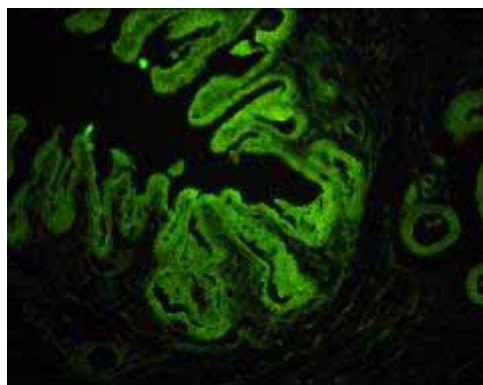


Figura 8: Placenta de 70 días de gestación, en donde se muestra marcación abundante (++) con **VFA** (100 µg) en vellosidad. También se observan glándulas e interior de glándulas con marcación abundante (++) (X 100).

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados expuestos en el presente trabajo, residuos de ácido siálico detectados a través de la lectina fluoresceïnada MAA estarían presentes en las vellosidades placentarias, región de íntimo contacto entre los tejidos de origen materno y fetal. Esto es coincidente con lo obtenido a períodos

tempranos de gestación en yeguas (*Equus caballus*) (Jones *et al.* 1999b) y al inicio y al final de la gestación en alpaca (*Lama pacos*) (Jones *et al.*, 2002), ambas especies con placenta epiteliocorial.

Hallazgos similares a los aquí informados sobre oligosacáridos de unión a PHA-L a estadíos de 55 y 70 d de preñez fueron encontrados por Jones *et al.* (1995) en la barrera interhemática porcina.

En placentas a término, la abundante marcación de oligosacáridos de unión a PHA-E hallado en las vellosidades, coincidió con la fuerte intensidad encontrada en la interfase feto-materna porcina del estudio llevado a cabo por Jones *et al.* (2004). Otros animales con placenta epiteliocorial mostraron similitudes: dos especies de pecaríes (*Tayassu tajacu* y *T. pecari*) (Jones *et al.*, 2004) y camello (*Camelus dromedarius*) (Jones *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2004). La excepción estuvo dada por la alpaca (Jones *et al.*, 2002) que presentó marcación negativa con PHA-L en el período mencionado.

La ausencia de residuos de unión a PHA-P en vellosidades placentarias porcinas de gestación temprana, coincide con lo hallado en camellos (Jones *et al.*, 2002).

En el presente trabajo es de interés notar que tanto PHA-L, PHA-E como PHA-P mostraron las marcaciones más importantes en períodos intermedios de gestación.

El período gestacional con mayor expresión de α -gal, detectada por AIA, se dió a los 70 d, con valor cuantioso. Valores positivos se encontraron al inicio y al final de la gestación, como así también a los 60 d. Residuos de β -gal y galNAc presentaron el mismo patrón de marcación que α -gal, salvo a 70 d en que PNA marcó en forma abundante.

Los valores de detección de PSA, que reconoce únicamente α -man, fueron menores a los hallados con las otras dos lectinas, Con-A y VFA, capaces de unir indistintamente manosa y glucosa (Koncurat *et al.*, 2004a y b; Sanchis *et al.*, 2005). La detección de α -man en todos los períodos gestacionales estudiados coincidió en parte con lo informado por Jones *et al.* (1995) y Zubeldía (2007).

Al inicio de la gestación, Con-A, PSA y VFA permitieron llegar a la conclusión de que residuos de manosa y glucosa se hallan presentes en las vellosidades placentarias porcinas, siendo Con-A la lectina que se expresa con mayor intensidad de fluorescencia, coincidiendo con datos aportados por Zubeldía en porcinos (2007).

Estudios llevados a cabo por Jones *et al.* (2000 y 2004) en la interfase feto-materna de placentas de pecaríes o cerdos salvajes, cerdos verdaderos (*Sus scrofa*) y en la barrera interhemática de camellos, todos ellos en placentas a término, se corresponden con nuestros hallazgos de positividad de α -man detectada en vellosidades placentarias de cerdas mestizas de 114 d de preñez. En dicho período, nosotros no sólo detectamos residuos de manosa en el epitelio uterino, sino también de glucosa.

CONCLUSIONES

Se concluye que cambios en el tipo y distribución de los residuos glicosilados presentes en las vellosidades placentarias acompañarían los cambios morfológicos de las placentas en desarrollo. Se destaca la presencia de glicoconjugados conteniendo manosa y glucosa en las vellosidades placentarias porcinas a lo largo de la preñez, ya que presentaron los valores más elevados detectados con Con-A y VFA. Esto sugeriría la participación de dichos residuos en la interacción entre el epitelio uterino y el trofoblasto, crucial para una preñez exitosa.

Referencias

- Ambrosi, M., Cameron N.R. and Davis, B.G. Lectins: tools for the molecular understanding of the glycode. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2005, nº 3, pp. 1593-1608.
- Amoroso, E.C., 1952. Placentation. En Parkes A.S. (dir), *Marshall's Physiology of Reproduction*, 3º ed. London (UK): Longmans, Green and Co, 1960, vol. 2, pp. 127-311.
- Bosch, R.A., Alanis, G.A., Allen, R.A., Blanch, M.S., Bosch, P. y Callejas, S., 2001 En Bosch, R.A. (dir), *Actualización en temas de reproducción animal*. Río Cuarto (Argentina): Editorial Universidad Nacional de Río Cuarto, 2001, pp. 150-152.
- Dantzer, V. Electron microscopy of the initial stages of placentation in the pig. *Anatomy and Embryology*, September 1985; vol. 172, nº 3, pp. 281-293.
- Dzuik, P.J. Embryonic loss in the pig: An enigma. En Barnett, J.L. (dir), Batterham, E.S. and Cronin, G.M., *Manipulating Pig Production*. Victoria (Australia): Australasian Pig Science Association, Werribee, 1987, pp 28-39.
- Gimeno, E.J. y Barbeito, C.G. Glicobiología, una nueva dimensión para el estudio de la biología y de la patología. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria LVIII*, 2004; vol. 58, pp. 6-34.
- Jones, C.J.P., Dantzer, V. and Stoddart, R.W. Changes in glycan distribution within the porcine interhaemal barrier during gestation. *Cell and Tissue Research*, March 1995, vol. 279, nº 3, pp. 551-564.

- 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.
- Jones, C.J.P., Enders, A.C., Wooding, F.B.P., Dantzer, V., Leiser, R. and Stoddart, R.W. Equine placental cup cells show glycan expression distinct from that of both chorionic girdle progenitor cells and early allantochorionic trophoblast of the placenta. *Placenta*, 1999a; vol. 20, nº 4, pp. 347-360.
- Jones, C.J.P., Wooding, F.B.P., Dantzer, V., Leiser, R. and Stoddart, R.W. A lectin binding analysis of glycosylation patterns during development of the equine placenta. *Placenta* 1999b, vol. 20, nº 1, pp. 45-57.
- Jones, C.J.P., Wooding, F.B.P., Abd-Elnaeim, M.M., Leiser, R., Dantzer, V., and Stoddart, R.W. Glycosylation in the near-term epitheliochorial placenta of the horse, donkey and camel: a comparative study of interbreeding and non-interbreeding species. *Journal of Reproduction and Fertility*, 2000, vol. 118, pp. 397-405.
- Jones, C.J.P., Abd-Elnaeim, M., Bevilacqua, E., Oliveira, L.V. and Leiser, R. Comparison of uteroplacental glycosylation in the camel (*Camelus dromedarius*) and alpaca (*Lama pacos*). *Reproduction*, 2002, vol. 123, pp. 115-126.
- Jones, C.J.P., Santos, T.C., Abd-Elnaeim, M., Dantzer, V. and Miglino, M.A. Placental glycosylation in Peccary species and its relation to that of Swine and Dromedary. *Placenta*, 2004, vol. 25, nº 7, pp. 649-657.
- Koncurat, M., Merkis, C., Zubeldía, D., Chanique, A., Cristofolini, A., Franchino, M., Abate Cano, L., Sanchis, G., Falco, P. y Vivas, A. Detección de glicoconjugados en la placenta porcina de diferentes estadios gestacionales. *Internacional Journal of Morphology*, 2004a, vol. 22, nº 1.
- Lawrence, J. By the year 2000: More pigs from fewer sows. *National Hog Farmer*, 1993, vol. 12, pp. 22-24.
- Leiser, R. and Kaufmann, P. Placental structure: in a comparative aspect. *Exp Clin Endocrino*, 1994; vol. 102, nº 3, pp. 122-134.
- Marrable, A.W. *The embryonic pig: A chronological account*. Editado por Marrable, A.W., London (UK): Exeter, Pitman Medical, 1971.
- Mosteller, F. and Tukey, J. *Understanding robust and explanatory data analysis*. Editado por Mosteller, F. and Tukey, J., New York (USA): Wiley JW and Sons Inc., 1982.
- 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.
- Pope, W.F. Embryonic mortality in swine. En Zaby, M.T. and Geisert, R.D. (dir), *Embryonic mortality in domestic species*. Boca Ratón, (USA): CRC Press, 1994, pp: 53-77. ISBN 08-493-76343.
 - Rashev, P., Georgieva, R. and Rees, D. Expression of $\alpha 5\beta 1$ integrin and fibronectin during early pregnancy in pigs. *Folia Biologica (Praha)*, 2005, vol. 51, pp. 121-125.
 - Sanchis, G., Merkis, C., Cristofolini, A., Franchino, M., Zubeldía, D. and Koncurat, M. Study of glycoconjugates during porcine placentation. *Biocell* (Mendoza), 2005, vol. 29, nº 2, p. 235. ISSN 0327 - 9545.
 - Szafranska, B., Majewska, M. and Panasiewicz, G. N-glycodiversity of the Pregnancy-Associated Glycoprotein family (PAG) produced in vitro by trophoblast and trophectoderm explants during implantation, placentation and advanced pregnancy in the pig. *Reproductive Biology*, 2004, vol 4, nº 1, pp. 67-89.
 - Vonnahme, K.A., Wilson, M.E. and Ford, S.P. Conceptus competition for uterine space: Different strategies exhibited by the Meishan and Yorkshire pig. *Journal of Animal Science*, 2002, vol. 80, nº 5, pp. 1311-1316.
 - Zubeldía, D. *Estudio ultraestructural y de residuos glicosilados en la placenta porcina*. Tesis de Maestría, Editorial de la Universidad Nacional de Río Cuarto, 2007.

REDVET: 2009 Vol. 10, Nº 12

Recibido 22.09.09 - Ref. prov. U010C - Aceptado 03.12.09
Ref. def. 120911_RED VET - Publicado 15.12.09

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111109.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121209/120911.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org>
y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://revista.veterinaria.org>