
Expresión de integrina $\alpha v \beta 1$ y sus ligandos, osteopontina y vitronectina en distintos estadios de la placentación porcina

Williamson, D.M.¹; Koncurat, M.A.¹; Vélez, C.L.^{1, 2} García, M.G.¹; Bruni, M.A.¹; Garro, A.C.¹; Fernandez, L.¹; Lopez, N.¹; Alderete, S.¹; Gastaldo, K.¹; Montesino Vasquez, O.A.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLPam

²CONICET.

dwilliamson@vet.unlpam.edu.ar

RESUMEN

Numerosos son los cambios arquitectónicos que sufre la placenta para aumentar la superficie de contacto y posibilitar como consecuencia el abastecimiento de nutrientes y oxígeno y la eliminación de los desechos de los embriones/fetos. En nuestro laboratorio estudiamos la expresión de las integrinas y sus ligandos a lo largo de la placentación porcina y establecimos potenciales relaciones con moléculas relacionadas con la inmunidad placentaria y con el sistema endocrino. Así, hemos demostrado la importancia de algunas integrinas ($\alpha v \beta 3$, $\alpha 5 \beta 1$, $\beta 1$ y $\alpha 3$) y sus ligandos (fibronectina, laminina y colágeno V) en la interfase feto-placentaria a lo largo de la gestación porcina y, en particular, su interrelación con citoquinas que participan en el mantenimiento de la preñez. El objetivo de éste trabajo es estudiar el rol de la integrina $\alpha v \beta 1$ y sus ligandos en placentas porcinas provenientes de diferentes períodos gestacionales, tratando de individualizar moléculas implicadas en los procesos de adhesión placentaria durante la gestación porcina. Se determinará la presencia de la integrina $\alpha v \beta 1$ y sus ligandos osteopontina y vitronectina por inmunohistoquímica en cortes de placentas porcinas de distintos períodos de gestación. Se determinó la expresión de OPN (osteopontina) por inmunoperoxidasa sobre tejidos de útero no gestante y de placentas porcinas maternas y fetales de diferentes periodos gestacionales (17, 30, 60, 70 y 114 dg). Los resultados se expresaron semicuantitativamente: (-)=negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. A los 17 dg, la OPN se halló elevada en el trofoblasto (+++), y se expresó levemente en el epitelio luminal endometrial y glándulas (+). A los 30 y 60 dg la expresión se halló elevada (+++) en los epitelios de la interfase placentaria. Además la OPN se expresó fuerte en glándulas en dichos periodos. Desde los 70 dg disminuyó (+) en epitelios y, en glándulas no se observó expresión de OPN. Se realizó la observación, análisis y procesamiento de imágenes de las muestras determinándose la densidad óptica (DO) y el porcentaje de área inmunomarcada (%AIM) de la inmunotinción detectada en distintas estructuras de la interfase placentaria porcina y útero no



gestante. Las imágenes de los preparados histológicos se capturaron con un microscopio Axiophot y se digitalizaron con una cámara Canon. La evaluación de los preparados histológicos se realizó con Image J. Los resultados cuantitativos están siendo analizados mediante un análisis de varianza y el test de Tukey; y en los casos que no se cumpla el supuesto de homogeneidad de varianzas, se utilizará un test no paramétrico. La expresión leve de OPN a los 17 dg en epitelio materno y glándulas, se debe a que sería sintetizada de novo por el trofoblasto. Las glándulas endometriales secretarían a la OPN expresada en interfase a los 30 y 60 dg. La OPN participaría en los procesos de placentación, permitiendo la adhesión entre los epitelios placentarios materno y fetal al inicio y mitad de la gestación. Su disminución a los 70 dg, etapa de mayor remodelaje placentario, se debería a que la molécula actuaría como supresor de la apoptosis.

Palabras Claves: Osteopontina, Placenta, Porcino.

Expression of integrin $\alpha\beta 1$ and its osteopontin and vitronectin ligands at different stages of swine placentation

ABSTRACT

Numerous architectural changes occur in placental tissue to increase the contact surface and thus allow the supply of nutrients and oxygen and the elimination of waste from embryos / fetuses. In our laboratory we studied the expression of integrins and their ligands throughout the swine placentation and established potential relationships with molecules related to placental immunity and the endocrine system. Thus, we have demonstrated the importance of some integrins ($\alpha\beta 3$, $\alpha 5\beta 1$, $\beta 1$ and $\alpha 3$) and their ligands (fibronectin, laminin and collagen V) in the fetus-placental interface throughout pig pregnancy and, in particular, its interrelation with cytokines that participate in the maintenance of pregnancy. The objective of this project is to study the role of integrin $\alpha\beta 1$ and its ligands in swine placentas from different gestational periods, trying to identify molecules involved in the processes of placental adhesion during swine gestation. The presence of integrin $\alpha\beta 1$ and its osteopontin and vitronectin ligands will be determined by immunohistochemistry in sections of swine placentas of different gestation periods. OPN (osteopontin) expression was determined by immunoperoxidase in tissues of non-pregnant uterus and in maternal-fetal porcine placentas of different gestational periods (17, 30, 60, 70 and 114 dg). The results were expressed semi quantitatively: (-) = negative, (+) = mild positivity, (++) = moderate positivity and (+++) = strong positivity. At 17 dg, OPN was elevated in the trophoblast (+++), and expressed slightly in the endometrial luminal epithelium and glands (+). At 30 and 60 dg the expression was found high (+++) in the epithelia of the placental interface. In addition, the OPN was strongly expressed in glands during these periods. At 70 dg it decreased (+) in epithelia and, no expression of OPN was observed in the glands. The observation, analysis and image processing of the samples were performed, determining the optical density (OD) and the percentage of immunostained area (% AIM) of the immunostaining in different structures of the porcine placental interface and non-pregnant uterus. The



images of the histological preparations were captured with an Axiophot microscope and digitized with a Canon camera. The Qualification of histological preparations was performed with Image J. One-way ANOVA and the Tukey's test were applied to calculate significant differences among samples. All values are indicated as mean \pm SD. In cases where the assumption of homogeneity of variance and normality was not fulfilled, a nonparametric test was used. The mild expression of OPN at 17 dg in the maternal epithelium and glands is due to the fact that it would be synthesized *de novo* by the trophoblast. The endometrial glands would secrete the OPN expressed at the interface at 30 and 60 dg. The OPN would participate in the placental processes, allowing adhesion between the maternal and fetal placental epithelia at the beginning and half of pregnancy. Its decrease at 70 dg, stage of major placental remodeling, is because the molecule would act as a suppressor of apoptosis.

Keywords: Osteopontin, Placenta, Porcine.

