

ESTRUCTURA Y ULTRAESTRUCTURA DE LAS PLACENTAS CAPRINAS A LO LARGO DE LA GESTACION

Tomás Díaz Torres^{1,3}, Cecilia Merkis Jaime², Andrea Bozzo Chiavassa¹, Débora Cots Negri^{1,3}, Carolina Flores Bracamonte¹, Andrea Cristofolini², Mariana Fiorimanti Bessone^{2,3}, María Cristina Romanini Caffaratti¹, Alicia Rolando Giordano¹

¹Laboratorio de Embriología, Dpto. de Anatomía Animal, ²Área de Microscopía Electrónica, Dpto. Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. ³Becario CONICET. Río Cuarto, Córdoba (5800), ARGENTINA. tdiazvet@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue estudiar las modificaciones estructurales de la placenta a lo largo de la gestación. Fueron extraídos 10 placentomas al azar de cada uno de los úteros de 15 cabras mestizas adultas preñadas. Éstos se fijaron en una solución de formol tamponado para microscopía óptica y en glutaraldehído para microscopía electrónica. Se observó el epitelio materno constituido por células mononucleadas, de núcleo claro, intercaladas con células multinucleadas formadoras de los sincitios. El tejido conectivo materno está ricamente irrigado con vasos de diferentes tamaños. El epitelio fetal posee células mononucleadas alternadas con células binucleadas (CBN). Algunas CBN se ubican en la profundidad del epitelio sin contactar con la membrana basal; otras se ubican más superficialmente y protruyen hacia la interface materno-fetal. A los 135 días de gestación los placentomas mostraron una estructura más compleja y desarrollada que los de 50 y 100 días, tendientes a disminuir la distancia interhemal. Se observaron mayores ramificaciones de las vellosidades con disminución del tejido

conectivo. Mediante el estudio de la morfología placentaria se corroboraron las características descritas para placentas caprinas y determinaron las adaptaciones morfológicas experimentadas al final de la gestación para optimizar el intercambio materno-fetal.

Introducción

La situación de la producción caprina en la República Argentina se basa en la existencia de aproximadamente 4,2 millones de cabezas caprinas distribuidas en 46.766 explotaciones ubicadas principalmente en las regiones áridas y semiáridas del país. Los sistemas productivos predominantes son extensivos sobre pastizales naturales muy degradados por sobre pastoreo y tala indiscriminada (1). Estas explotaciones caprinas responden a una economía de subsistencia, de carácter familiar, con grandes carencias de registros técnicos y económicos, que se distribuyen en zonas marginales poco aptas para otras actividades (2). Estos sistemas poseen bajos índices productivos de alrededor de 0,65 a 0,78 cabrito/cabra/año y una estacionalidad en la producción en los meses estivales. Estos factores sumados a la situación particular de los productores por la deficiente organización, problemas de comercialización, deficiente transferencia de tecnología disponible para la producción de cabritos (1), hace aún más vulnerable estos sistemas de producción. En los últimos años, la capricultura, en distintas regiones se ha encaminado a la producción de leche, la que se comercializa en forma fluida o se emplea en la producción de quesos artesanales (3). En tercer lugar en orden de relevancia se encuentra la producción de fibra cashemere, la cual es una de las fibras textiles de origen animal más preciadas por su suavidad y finura. La potencialidad del mercado internacional de esta fibra caprina ha motivado el desarrollo de la misma en varios países (4). La producción de cashemere en el país se encuentra en desarrollo en sistemas de producción tradicionales, utilizando animales de raza criolla descendientes de animales asiáticos productores de fibra (4). Los beneficios de la cría de animales de granja dependen de la eficiencia en la producción, en el crecimiento y desarrollo después del nacimiento. Para optimizar esto es importante partir de un eficiente crecimiento fetal y buen peso al momento del nacimiento (5,6). El tamaño y estructura placentaria, así como la capacidad de

ésta para transferir nutrientes, determina un buen desarrollo fetal y esto incide directamente sobre el peso al nacimiento.

La cabra posee una placenta sinepiteliocorial, cotiledonaria y adecidua (7). Desde el punto de vista morfológico, es considerada cotiledonaria debido al desarrollo de áreas restringidas de interdigitación entre el tejido materno y fetal, conocidas como placentomas (8). Los mismos oscilan en número de 70 a 120 por gestación (9) y tienen forma predominantemente cóncava desde el lado fetal. Cada placentoma es la unidad de intercambio de nutrientes feto-maternos y está formado por el tejido fetal cotiledonario que forman vellosidades las que se corresponde con criptas maternas carunculares (7).

En los últimos años se ha demostrado por medio de la microscopía, que el epitelio fetal trofoectodérmico está constituido por células mononucleadas intercaladas con células binucleadas (10,11). Las células mononucleadas son mayoritarias y tienen como función principal el intercambio de nutrientes, las células binucleadas, en cambio, son células que sintetizan hormonas, como la progesterona y el lactógeno placentario (12). Las células mononucleadas también se ha demostrado que realizan eritrofagocitosis a partir de la sangre materna extravasada, y esto constituiría una forma de transferencia de hierro en las placentas de rumiantes (13, 14). Las células binucleadas del epitelio trofoblástico constituyen alrededor de un 20% del total de células del epitelio a lo largo de la gestación (7) y se ubican a diferentes niveles entre la membrana basal y la interfase materno-fetal, dependiendo del grado de madurez de las mismas. Algunas células binucleadas (CBN) se desprenden del epitelio, migran hacia el lado materno y se fusionan con las células del epitelio uterino formando placas sincitiales feto-maternas (7, 15). Por esta razón actualmente es aceptada la denominación para la placenta de la cabra y otros rumiantes como sinepiteliocorial (16). En su migración, las CBN transportan en su citoplasma gránulos para ser liberados al epitelio materno y desde allí su contenido a la circulación materna. Este es el mecanismo ideal por los cuales los productos fetales influyen el metabolismo materno y las reacciones inmunológicas a favor del feto, evadiendo la barrera de uniones estrechas de la placenta (7). Los gránulos contienen moléculas proteicas, el lactógeno placentario y las glicoproteínas asociadas a la

preñez. En ovinos y bovinos, el primero ha sido localizado exclusivamente en los gránulos de la CBN, lo que indicaría que la síntesis y almacenamiento ocurriría en dichas células antes de su migración (16, 17). El tejido conectivo que acompaña al epitelio trofoblástico presenta numerosos vasos sanguíneos de diferentes tamaños. Al final de la preñez los capilares se aproximan a las células epiteliales y se fusionan con la membrana basal disminuyendo la distancia interhemal (18,19). Hay escaso conocimiento de la estructura de la placenta de cabras mestizas y sus modificaciones adaptativas para cubrir el incremento de la demanda metabólica a lo largo de la gestación. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las modificaciones estructurales de la placenta a lo largo de la gestación en cabras mestizas.

Materiales y métodos

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Institucional de Ética de la Investigación en Salud de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

1. Toma de muestras

Se utilizaron 15 cabras mestizas adultas mayores de 2 años, controladas clínicamente y libre de enfermedades infecciosas, destinadas a faena, provenientes de un establecimiento ubicado a 10 km de la UNRC ($33^{\circ}7' S$, $64^{\circ},13' O$). Se realizó la detección del celo 2 veces por día, a la mañana y a la tarde, por observación directa. Luego de comprobar la ciclicidad de las hembras se realizó el servicio por monta natural. El diagnóstico de gestación se realizó entre los 25-30 días posteriores al servicio, utilizando un ecógrafo Berger®, modo B, de tiempo completo, provisto de un transductor lineal transrectal de 7.5 Mhz. Se eutanasiaron 5 animales a los 50 días, 5 a los 100 días y 5 a los 135 días de gestación. Luego se procedió a incidir el abdomen por línea media y retirar el útero grávido.

2. Procesamiento del útero grávido y medición de parámetros morfológicos.

Cada cuerno uterino se incidió a lo largo del borde antimesometrial y fueron extraídos diez placentomas al azar (tres del cérvix, cuatro del cuerpo y tres del cuerno) de cada uno de los úteros y fijados en solución de formol tamponado, pH 7,5 para las técnicas histológicas y en glutaraldehído para microscopía electrónica.

3. Técnica histológica convencional para microscopía óptica

Las muestras fijadas en formol tamponado se deshidrataron con baterías de alcoholes de graduación creciente, para ser incluidos en parafina. Se realizaron cortes histológicos de $\pm 4 \mu\text{m}$ de espesor, se colorearon con Hematoxilina-Eosina para el reconocimiento de estructuras tisulares y se siguieron los pasos de la técnica histológica convencional.

4. Técnica de microscopía óptica de alta resolución (MOAR)

Para el estudio de la estructura placentaria por MOAR, las muestras de tejido placentario se fijaron en glutaraldehído al 2,5 % en solución tampón fosfato de Sörensen (0,1 M, pH 7,4) durante 3 h a 4°C. Luego de lavado en solución tampón fosfato, se refijaron con tetróxido de osmio al 1% durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación se lavaron dos veces en solución tampón fosfato y se deshidrataron en concentraciones crecientes de acetona. Se procedió luego a la preinclusión en resina epoxi EMbed 812 1:1 en acetona 100% durante toda la noche a temperatura ambiente y posteriormente a una inclusión en EMbed 812 a 60°C, durante 24 horas. A través de un ultramicrotomo manual (Sorvall MT-1A, DuPont, USA), utilizando cuchillas de vidrio, se obtuvieron cortes semifinos ($\pm 0,25 \mu\text{m}$) los que fueron colocados sobre portaobjetos de vidrio y teñidos con azul de toluidina sobre una platina termostatzada, para permitir la entrada del colorante al tejido incluido en la resina.

Para los cortes coloreados con hematoxilina Eosina y MOAR se adquirieron las imágenes con una cámara Canon Powershot G6 7.1 megapixels (Canon, Japón) adosado a un microscopio Axiophot (Carl Zeiss, Alemania).

5. Análisis de ultraestructura. Técnica para microscopía electrónica de transmisión (MET)

A las muestras de tejido placentario incluidas en resina epoxi EMBED 812 se les realizaron cortes ultrafinos (20-60 nm) y se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo. La observación de los cortes se realizó con un microscopio electrónico de transmisión Elmiskop 101 (Siemens, Alemania). Las imágenes fueran adquiridas en el microscopio electrónico Jeol JEM 1200 EX II (Jeol, Japón) y analizadas mediante el software Digital Micrograph software (Gatan, Japón).

Resultados

Análisis estructural y ultraestructural

Placentomas de 50 y 100 días de gestación

A través de la microscopía óptica y MOAR se estudió la estructura de los placentomas. El epitelio materno, caruncular, es delgado y está constituido por células mononucleadas, cúbicas, con un núcleo claro, intercaladas con células multinucleadas. Estas últimas, también llamadas sincitios, tienen un número variado de núcleos con predominio de heterocromatina y escaso citoplasma. Este tejido se encuentra en íntimo contacto con el epitelio fetal. El tejido conectivo se muestra ricamente irrigado con vasos de diferentes tamaños (Fig. N°1)

El epitelio fetal, cotiledonario, tiene apariencia pseudoestratificada y está constituido principalmente por células mononucleadas (CMN) alternadas con células binucleadas (CBN) que están dispuestas a distinta altura y profundidad. Las CBN son grandes y redondeadas, poseen dos núcleos grandes y claros, con predominio de eucromatina. Su citoplasma se colorea más oscuro que las CMN adyacentes, y en él se observaron estructuras redondeadas, sin colorear, semejantes a gránulos citoplasmáticos. Algunas de estas CBN se ubican en la profundidad del epitelio; otras, en cambio, se ubican más superficialmente y protruyen hacia el lado materno. También se observaron algunas otras libres en la zona de unión materno-fetal. Dentro de las CBN hay variaciones en su coloración, siendo más claras las ubicadas en proximidad a la membrana basal del epitelio y más oscuras a medida que se van acercando al epitelio materno. Éstas fueron identificadas, tanto a los 50 como a los 100 días de gestación (Fig. N°2). Las CMN son las predominantes del epitelio fetal, siendo columnares altas en las bases de las vellosidades fetales (zona arcada) y cúbicas a lo largo del resto de la vellosidad. Poseen un solo núcleo grande con predominio de eucromatina y un citoplasma claro. La base de las mismas asienta sobre la membrana basal, mientras que su borde apical contacta con la zona de unión materno-fetal.

Invaginados en la cara basal de dichas células se observaron algunos capilares fetales. La membrana basal del endotelio capilar está fusionada a dicha membrana del epitelio trofoblástico. Además gran cantidad de pequeños capilares se observaron cercanos al epitelio trofoblástico (Fig. N°2).

En la zona arcada, además, las células mononucleadas presentan eritrocitos en el interior de su citoplasma. También se observan eritrocitos libres en la interface materno-fetal, llamado hematoma placentario.

A través de MET se estudió la ultraestructura de los placentomas. Las placas sincitiales del epitelio materno se observaron como estructuras planas con un número variable de núcleos de forma irregular y cromatina altamente condensada. En su escaso citoplasma se observan vesículas de diferente electrodensidad.

En el epitelio trofoblástico las CBN se localizaron a diferente altura, como lo observado con microscopía óptica. Las mismas, ubicadas en la profundidad del epitelio no contactan con la membrana basal. Sus núcleos, dobles, son claros con nucléolos prominentes y eucromatina; en el citoplasma se visualizaron gránulos electrodensos de distintos tamaño, ubicados en la región basal de la célula. Estos gránulos son más abundantes en las CBN ubicadas en la superficie del epitelio. Las CMN del epitelio trofoblástico tienen núcleos claros, polimorfos y ubicados en la región basal de las mismas. Su citoplasma presenta numerosas mitocondrias y organoides celulares, pero no se observaron gránulos intracitoplasmáticos. Estas CMN contactan, por su cara basal, con la membrana basal del epitelio y su cara apical, provista de microvellosidades, se encuentra en la interface materno fetal. En el tejido conectivo se observaron gran cantidad de pequeños capilares en estrecho contacto con el epitelio trofoblástico. La membrana basal del endotelio capilar se ve fusionada a la membrana basal del epitelio fetal

Placentomas de 135 días de gestación

A los 135 días de gestación los placentomas mostraron una estructura más compleja y desarrollada, en relación a las placentas de 50 y 100 días. El tejido cotiledonario, desde la zona arcada emite vellosidades primarias que rápidamente se ramifican en secundarias y terciarias penetrando las criptas carunculares con las que se entrelazan formando una malla interdigitada entre el tejido materno en íntimo contacto con el fetal. El epitelio cotiledonario en la base de las vellosidades es de tipo cúbico alto pseudoestratificado, formado principalmente por CMN con presencia de eritrocitos en su interior y escasas células binucleadas. A medida que la vellosidad avanza hacia el lado materno y se ramifica, rápidamente su epitelio se transforma en cúbico bajo con mayor cantidad de células binucleadas, ubicadas a

diferente altura del epitelio o en la interface materno fetal (Fig. N°3 y 4). El tejido conectivo en el interior de las mismas, es laxo con presencia de vasos sanguíneos de gran calibre. En las vellosidades secundarias y terciarias dicho tejido disminuye casi hasta desaparecer y los vasos sanguíneos reducen su diámetro para formar pequeños capilares, los cuales se ubican en íntimo contacto con la membrana basal y entre las células.

Las células trofoblásticas mononucleadas tienen forma irregular y presentan uniones estrechas entre ellas (Fig. N°4). Sus núcleos en general son redondeados, con un gran nucléolo y cromatina finamente dispersa. La superficie apical de estas células se modifica para formar microvellosidades que se interdigitan con procesos similares de las células del epitelio uterino. Las células binucleadas inmaduras, localizadas en la profundidad del epitelio trofoblástico son células esféricas, con dos núcleos. Las células binucleadas que se observaron protruyendo del epitelio poseen mayor cantidad de gránulos citoplasmáticos de distinto tamaño y electrodensidad (Fig. N°4).

Al igual que lo observado para las placentas de los períodos gestacionales anteriores, el tejido caruncular emite tabiques, que al proyectarse hacia el tejido fetal forma criptas invadidas por las vellosidades fetales. Estos tabiques se ramifican ampliamente, aumentando la superficie de contacto con el tejido cotiledonario. La mayor diferencia con aquellas placentas es que al final de la gestación los tabiques maternos son más finos, con escaso tejido conectivo por donde circulan los vasos sanguíneos. Al igual que en períodos anteriores las placas sincitiales del epitelio materno tienen un número variable de núcleos con cromatina altamente condensada y en su escaso citoplasma presentan vesículas de diferente electrodensidad (Fig. N°5).

Discusión

El análisis de la estructura y ultraestructura de las placentas de 50, 100 y 135 días de gestación demostró que estas placentas no se apartan de lo descrito para las placentas de rumiantes. Las células mononucleadas son mayoritarias en el epitelio trofoblástico, poseen microvellosidades en su parte apical lo que indica su función de absorción de materiales, por lo tanto serían las encargadas principalmente del

intercambio materno fetal, tal lo demostrado por Igwebuike (2006) y Wooding *et al.*,(1987). Las células binucleadas, se disponen intercaladas entre las mononucleadas y en menor número que éstas. Los gránulos observados en su citoplasma son productores de hormonas como progesterona y lactógeno placentario. A medida que las células van madurando se acumulan mayor cantidad de estos gránulos en su citoplasma y luego se secretarán cuando se fusionen al tejido materno tal lo descrito por Igwebuike (2013) y Klisch *et al.*, (2010). En la zona arcada se observaron CMN con presencia de eritrocitos en su citoplasma, lo que nos indica la capacidad de fagocitar este material desde el acúmulo de sangre extravasada ubicado en la interface materno-fetal. Las CBN son escasas en dicha zona y las mismas no contenían células hemáticas en su interior, demostrándonos que no son capaces de realizar esta función. La eritrofagocitosis, también descrita en bovinos y ovinos es, tal vez, un importante mecanismo de transferencia de hierro de la madre al feto (13, 14). La presencia de capilares fetales fusionados a la cara basal de CMN e invaginados en dicho epitelio disminuye considerablemente la distancia de la barrera placentaria, por consiguiente se reduce la distancia de difusión entre la sangre fetal y la sangre materna, favoreciendo el intercambio de nutrientes. A los 135 días de gestación la placenta presenta modificaciones adaptativas a las mayores demandas metabólicas de la gestación en el último trimestre. El continuo crecimiento y desarrollo de los placentomas, generan estructuras histológicas más complejas y entrelazadas entre el tejido caruncular y cotiledonario. Se ha considerado a la placenta sinepiteliocorial como menos eficiente que otras, debido al mayor grosor de la barrera placentaria y por ende la mayor distancia interhemal. Sin embargo, este concepto puede ser erróneo teniendo en cuenta que hay otros factores como el grado de permeabilidad de sus capas, el grosor de los epitelios y la disposición del sistema vascular, que pueden aumentar la eficiencia fisiológica del transporte placentario (16). A través de la microscopía óptica y electrónica se observaron, hacia el final de la gestación, modificaciones en la estructura placentaria tendientes a aumentar el transporte de gases y nutrientes. Las vellosidades se ramifican ampliamente invadiendo cada vez más el tejido materno. El tejido conectivo dentro de las vellosidades disminuye, de esta manera los vasos sanguíneos que se ubican en su interior toman íntimo

contacto con el epitelio trofoblástico. Santos *et al.*, (1998) encontraron esta misma disminución en el tejido conectivo de las vellosidades fetales hacia el último tercio de gestación, relacionado con la mayor ramificación de las vellosidades. Afirma que esta disminución del tejido conectivo permite un mayor desarrollo vascular y a su vez prepararía la placenta para su expulsión en el parto.

Es de destacar, como se observa a través de MOAR y TEM que los capilares fetales parecieran penetrar los surcos entre las células del epitelio como fue descrito por Lawn *et al.* (1969) y similar a los capilares sinusoides descritos por Hafez *et al.*, (2010) en placentas ovinas y caprinas. Esta disposición de los capilares reduce la distancia entre la sangre materna y fetal.

Por otro lado, al final de la gestación los tabiques maternos son delgados con escaso tejido conectivo lo que favorece la aproximación de los vasos al epitelio endometrial. Los tabiques maternos, además forman criptas cada vez más ramificadas aumentando la superficie de difusión con el tejido de las vellosidades cotiledonarias.

Conclusión

A través del análisis estructural y ultraestructural de las placentas de 50, 100 y 135 días de gestación, se ha podido corroborar las características descritas para placentas caprinas. Además de determinar las adaptaciones morfológicas que experimenta la placenta hacia el final de la gestación para optimizar el intercambio feto-materno.

Bibliografía

- 1.- Chagra Dip, E; Leguiza, H; Cortéz, S; Aguilar, G. y Varas, M. Evaluación de los pesos al nacimiento, el crecimiento y consumo de leche de cabritos criollos en un sistema de manejo intensivo. *Revista Argentina de Producción Animal*, 2010; 2: 131 - 132.
- 2.- Bedotti D., Gómez A., García A., Sánchez M., Perea J., Rodríguez V. Estructura productiva de las explotaciones caprinas del oeste pampeano (Argentina) *Archivos de Zootecnia, España*. 2007; 56 (213): 91-94.

- 3.- Alonso N., Rodriguez V., Menajovsky J., Misiunas S., Carcedo J. Producción de leche caprina con suplementación en época de sequía en el noroeste de Córdoba, Argentina. *Revista Electrónica de Veterinaria*.2012; 13 (8):1-10.
- 4.- Lanari M. Producción de fibra cashemere en Argentina. Primer Congreso Argentino de Producción Caprina.2013; 53-58.
- 5.- Greenwood P., Thompson A., Ford S. Postnatal Consequences of the Maternal Environment and of Growth During Prenatal Life for Productivity of Ruminants. Managing the Prenatal Environment to Enhance Livestock Productivity. *Journal of Animal Science*. 2012; 90:1338-1348.
- 6.- Blair H., Jenkinson C., Peterson S., Kenyon P., Van Der Linden D., Davenport L., Mackenzie D., Morris S., Firth E. Dam and grand dam feeding during pregnancy in sheep affects milk supply in offspring and reproductive performance in grand offspring. *Journal of Animal Science*. 2010; 88: 40–50.
- 7.- Wooding P and Burton, G. Comparative placentation: structure, functions and evolution. Springer. Verlag Berlin Heidelberg. 2008; 1-291.
- 8.- Santos R., Barreto Filho J., Marques A., Andrade J. Volumetric proportions of the goat placenta structural components throughout gestation. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*.1998; 35 (4): 156-160.
- 9.- Turiello P. Incidencia del nivel nutricional sobre el estado metabólico y hormonal en cabrillonas y su repercusión sobre la eficiencia reproductiva. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Río Cuarto. 2012.
- 10.- Cristofolini, A. L., Turiello, M. P., Sanchis, E. G., Cufre, G., & Merkis, C. I. Effect of feed restriction and realimentation with monensin supplementation on placental structure and ultrastructure in anglo-nubian goats. *ISRN veterinary science*. 2012.
- 11.- Igwebuike U., and Ezeasor D. Morphological assessment of placentomal trophoblastic epithelium in the placenta of West African Dwarf goats: A light and electron microscopic study. *Animal Reproduction Science* 2012; 136: 61-68.
- 12.- Igwebuike U. Trophoblast cells of ruminant placentas-A minireview. *Animal Reproduction Science* 2006;93, (3-4): 185-198.
- 13- Santos R., Barreto Filho J., Marques A., Andrade J. Erythrophagocytosis in the Caprine Trophoblast. *Theriogenology*. 1996; 46:1077-1083.
- 14-. Cazerta S., Miglino M., Marques R., Vulcano M., Pereira F. Caracterização das áreas hemófagas da placenta bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*.2007; 27(6):229-235

- 15.- Igwebuike, U. M. and Ezeasor, D. N. The morphology of placentomes and formation of chorionic villous trees in West African Dwarf goats (*Capra hircus*). *Veterinarski arhiv*,2013; 83(3), 313-321.
- 16- Wooding, F. B. P., & Beckers, J. F. Trinucleate cells and the ultrastructural localisation of bovine placental lactogen. *Cell and tissue research*. 1987; 247(3), 667-673.
- 17.- Klisch K., Wooding, F., Jones, C. The Glycosylation Pattern of Secretory Granules in Binucleate Trophoblast Cells is Highly Conserved in Ruminants.2010; *Placenta* 31: 11-17
- 18.- Hafez, S. A., Borowicz, P., Reynolds, L. P., & Redmer, D. A. Maternal and fetal microvasculature in sheep placenta at several stages of gestation. *Journal of anatomy*. 2010; 216(3), 292-300.
- 19.- Lawn, A. M., Chiquoine, A. D., & Amoroso, E. C. The development of the placenta in the sheep and goat: an electron microscope study. *Journal of anatomy*. 1969; 105 (3), 557.

ANEXO

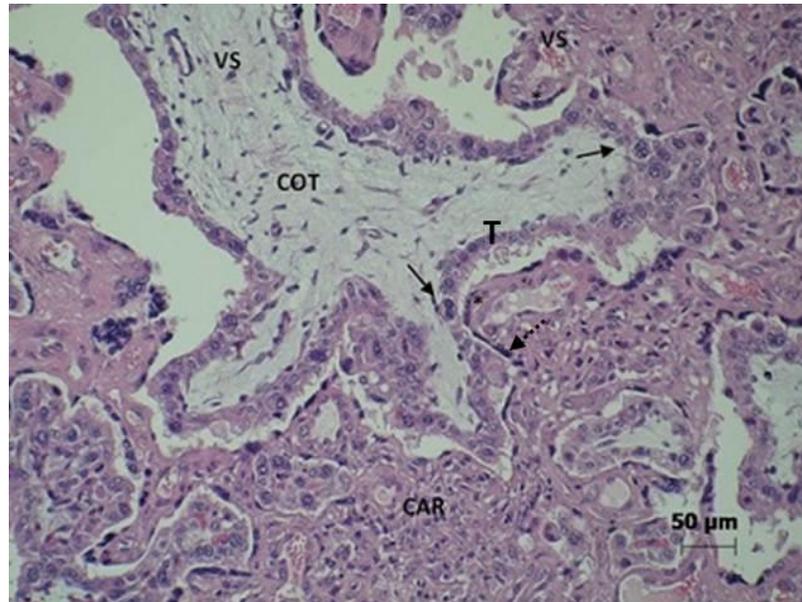


Fig. N° 1: Fotografía de microscopía óptica (H/E) de placentoma caprino de 50 días de gestación. Se observa el tejido cotiledonario (COT) tapizado por el epitelio trofoblástico (T) formado por células binucleadas (flecha negra) y mononucleadas en íntimo contacto con el tejido caruncular (CAR). Este último posee un epitelio compuesto de células sincitiales (flecha punteada) y mononucleadas. Se identifican en el tejido conectivo materno y fetal gran cantidad de vasos sanguíneos (VS).

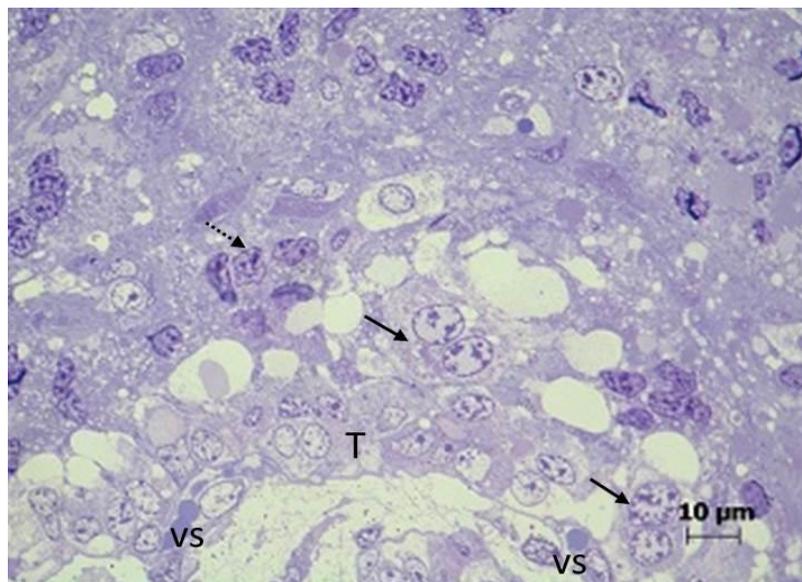


Fig. N° 2: Fotografía de microscopía óptica de alta resolución (MOAR) de placentoma caprino de 50 días de gestación. Epitelio trofoblástico (T) con células binucleadas (flecha negra). Los capilares fetales (VS) están en estrecho contacto con este epitelio. Epitelio caruncular con células sincitiales (flecha punteada).

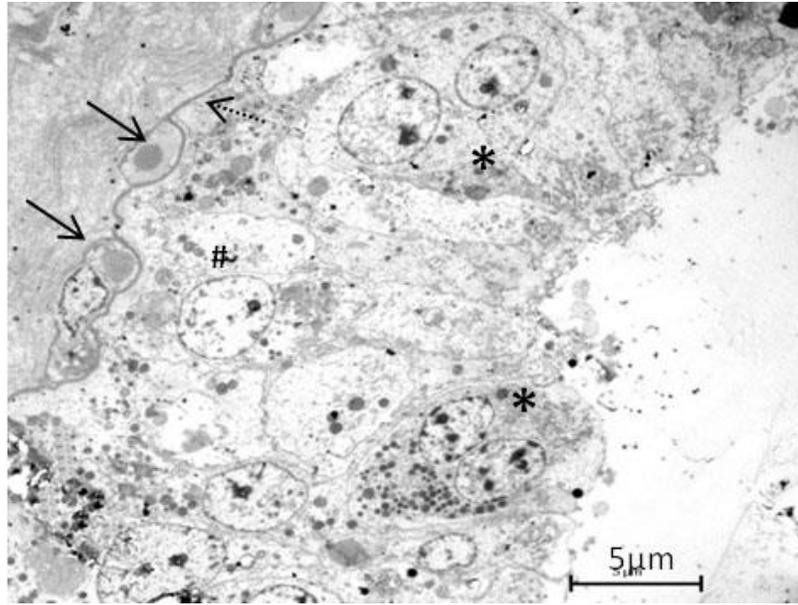


Fig. N° 3: Microfotografía electrónica de placentoma de 135 días de gestación. Las células mononucleadas trofoblásticas (#) acientan sobre la membrana basal y se extienden hasta la unión materno-fetal. Células binucleadas (*) a diferente altura del epitelio. Capilares fetales (flechas negras) fusionados con la membrana basal (flecha punteada).

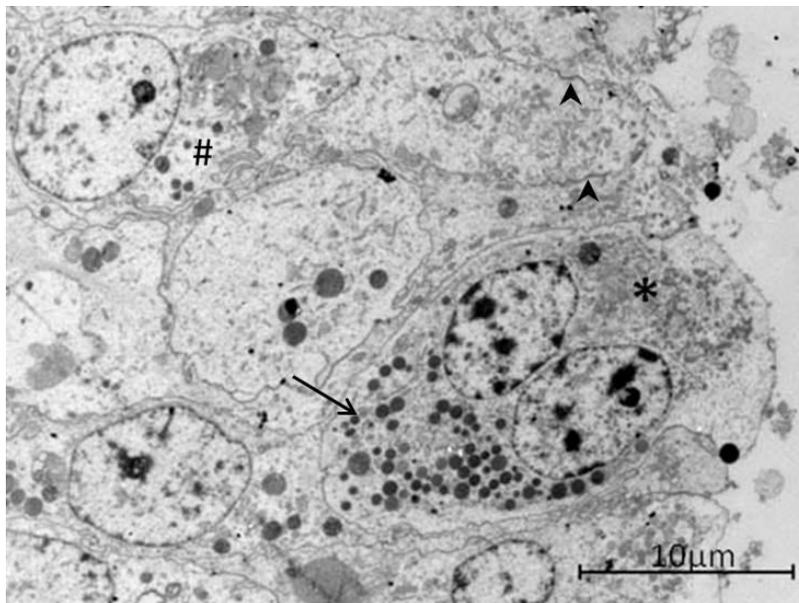


Fig. N° 4: Microfotografía electrónica de placentoma de 135 días de gestación. Célula binucleada madura (*) con gránulos citoplasmáticos en la región basal con diferente electrodensidad (flecha negra). Célula mononucleada con núcleo redondeado y nucléolo prominente. Presencia de uniones estrechas entre las células.

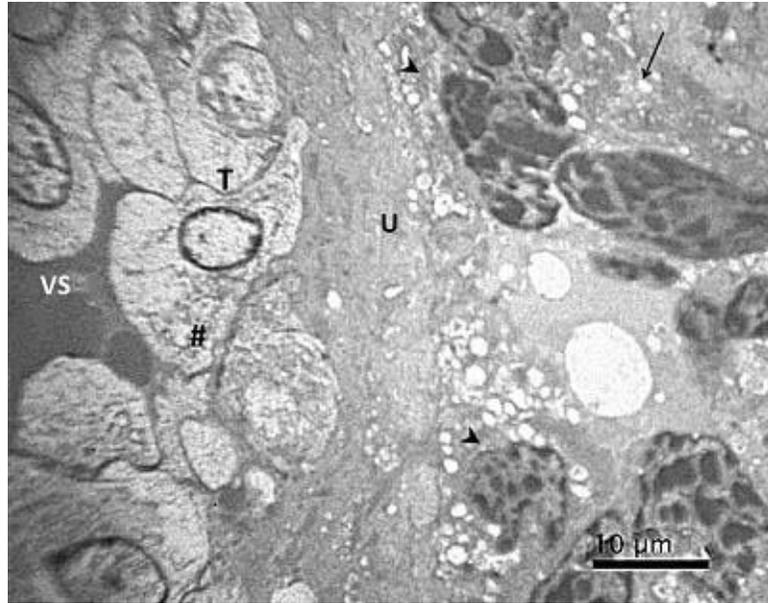


Fig. N° 5: Microfotografía electrónica de placentoma de 135 días de gestación. Epitelio materno con células sincitiales (cabeza de flecha) y citoplasma rico en vesículas (flecha negra). Epitelio trofoblástico (T) con célula mononucleada (#). Vasos sanguíneos fetales (VS) en el tejido conectivo. Unión materno-fetal (U).