

Patología placentaria: conocimientos generados por estudios experimentales*

Comunicación del Dr. M. V. Claudio Gustavo Barbeito

Colaboración: Cecilia M. Galosi, Cristina E. Monteavaro, Enrique L. Portiansky, Carolina Zanuzzi, Matias L. Eöry, Nadia Fuentealba, Mariana Woudwyk, Pedro Fernando Andrés Laube, Giselle Martín Ocampos, Mirta Alicia Flamini, Eduardo Juan Gimeno.

Introducción a la biología de la placenta

Los mecanismos de nutrición de los embriones animales se agrupan en dos grandes categorías: lecitotrópicos y matrotrópicos. En la primera de ellas la nutrición prenatal se basa en el vitelo, que es un conjunto de sustancias acumuladas en la gameta femenina antes de la fecundación. En la segunda categoría se incluyen diversas adaptaciones mediante las cuales la madre alimenta al nuevo ser en el interior de su cuerpo a partir de sustancias producidas por ella. Estas adaptaciones permitieron el surgimiento de la viviparidad, de manera independiente en numerosas ocasiones a lo largo de la evolución. Uno de los mecanismos más importantes de alimentación durante la ontogenia prenatal dependiente de la madre, es el desarrollo de un órgano específico: la placenta. Si bien la función original de la placenta fue, casi sin dudas, el intercambio de gases y nutrientes, esta estructura adquirió a lo largo de su evolución muchas otras funciones (Amoroso, 1968, Enders and Carter, 2006, Wooding y Burton, 2008).

La placenta es un órgano transitorio formado por tejidos embrionarios o fetales y maternos que permite intercambios fisiológicos y minimiza las posibilidades de rechazo del embrión por el sistema inmune materno, de esta manera permite alcanzar el adecuado desarrollo y crecimiento del nuevo individuo en las primeras etapas de su ontogenia. De esta definición surgen algunos aspectos muy interesantes. La placenta es un órgano transitorio, pero es indispensable para la vida durante el desarrollo embrionario y fetal. Esto se debe a sus múltiples funciones que le permiten reemplazar, durante la vida prenatal, de manera total o parcial a los sistemas digestivo, respiratorio, excretor, endocrino e inmune. Además, de la definición se desprende que la placenta es un órgano mixto, formado por tejidos maternos y embrionarios o fetales. Esta característica es sorprendente; debido a que nos encontramos con una estructura en cuya formación intervienen componentes de dos individuos distintos. En algunos casos, como en los ruminantes y en ciertos marsupiales, se llega a la fusión de células maternas y fetales. Por lo general el término placenta se asocia a los mamíferos y más específicamente a los euterios,

* Trabajo realizado en el marco del Proyecto de investigación "Modelos experimentales para el estudio de la patogenia de la muerte embrionaria en tritricomonosis bovina y herpesvirosis equina" financiado parcialmente por la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria y realizado en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Académico Responsable: Dr. Eduardo Juan Gimeno.

pero su presencia no se limita a esta clase de animales. Así, varios grupos de vertebrados desarrollaron placentas durante su evolución e inclusive existen artrópodos y algunos otros invertebrados con placentas (Barbeito, 2008, Wooding and Burton, 2008).

Las placentas han surgido en las siguientes clases de vertebrados: condriictios (peces cartilagosos), osteictios (peces óseos), reptiles y mamíferos. En general, el componente materno de la placenta es la mucosa del útero o del oviducto (Haines *et al.*, 2006, Skov *et al.*, 2007, Stewart and Thompson, 2000, Wooding and Flint, 1994); pero en los osteictios, en los que el conducto de Müller involuciona durante el desarrollo, la placentación puede ocurrir en la luz del gonoducto o en el interior de los folículos del ovario (Schindler, 2003, Grier and Uribe, 2006, Mc Millán, 2007, Plaul *et al.*, 2009) (**Fig. 1**).

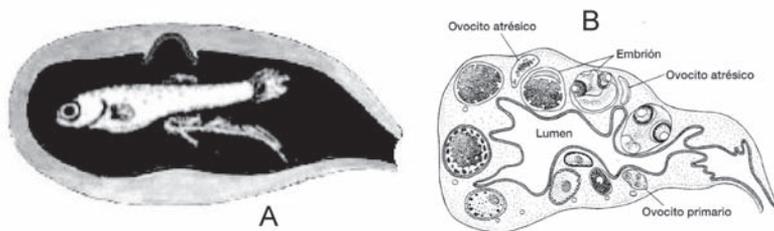


Figura 1. Placentación en osteictios. A. Placentación luminal. B. Placentación intrafolicular.

Características de la placenta de los euterios

Dentro de los vertebrados, las clases reptiles, aves y mamíferos son considerados amniotas. En ellos aparecen cuatro anexos embrionarios que son indispensables para la vida prenatal, pero que desaparecen luego del nacimiento. Estos anexos son el saco vitelino, el amnios, el alantoides y el corion. Excepto el amnios, todos estos anexos participan en la formación de la placenta (Gilbert, 2005).

Según sus características reproductivas, los mamíferos se dividen en tres subclases: prototerios (representados por los monotremas ovíparos), metaterios (marsupiales que desarrollan una placenta que permite un corto periodo de vida intraembrionaria) y euterios.

Existe consenso en considerar que el ancestro de todos los euterios fue placentado y que la placenta se mantuvo a lo largo de la evolución del grupo. Sin embargo, la diversidad morfológica y funcional que ha alcanzado la placenta dentro de esta subclase de mamíferos no es comparable a la observada en ningún otro órgano. Esta observación se ve respaldada por la amplia variabilidad en la expresión génica (Cross *et al.*, 2003). Muchos científicos especulan hoy sobre el origen de tal variabilidad (Zeh and Zeh, 2000).

De la misma manera, los procesos de implantación del embrión y de formación de la placenta (placentación) son altamente variables. Muchos aspectos comunes de las placentas se explican por evolución convergente, aunque también existen evidentes homologías profundas, por ejemplo algunos genes relacionados con la placentación temprana, por ejemplo el de la Interleuquina 1, se expresan tanto en la placenta de conductivos como en la de euterios (Haines *et al.*, 2006).

Ejes de estudio de la placenta

La complejidad y la diversidad placentaria de los euterios determinan que sea necesario establecer ejes que permitan sistematizar los estudios sobre este órgano. Los ejes que postulamos son los siguientes: morfológico, molecular, fisiológico e inmunológico.

Eje morfológico

El eje morfológico incluye criterios anatómicos, microscópicos, ultraestructurales y ontogénicos. De este eje surgen las descripciones que permitieron realizar la mayor parte de las clasificaciones de la placenta. Los criterios de clasificación utilizados surgen de distintas revisiones (Barbeito, 2008, Bjorkman, 1973, Carter and Mess, 2007, Enders and Carter, 2004, 2006, Leiser and Kaufman, 1994, Lesiser *et al.*, 1998, Schafner *et al.*, 2000).

La primera clasificación que se establece es **según el origen de las vellosidades coriales**. El corion, con una única excepción, es un constituyente de la parte embrionaria o fetal de la placenta. Este anexo está constituido por un epitelio denominado trofoblasto o trofoectodermo, que contacta directamente con el endometrio, y por una lámina de mesodermo extraembrionario. El corion para aumentar la superficie de contacto presenta evaginaciones llamadas vellosidades coriales. Las regiones de corion con vellosidades constituyen el corion veloso o frondoso. Pese a poseer mesénquima el corion no produce vasos sanguíneos y debe fusionarse con anexos angiogénicos, como el saco vitelino o el alantoides. Si bien aparece durante los primeros estadios, en muchos euterios, una placenta coriovitelina y en los roedores existe una placenta vitelina invertida, en la que el corion no participa, la placenta corialantoidea es la variedad definitiva en todos los miembros de esta subclase. La siguiente clasificación tiene como criterio **la eliminación de tejidos maternos durante el parto (clasificación obstétrica)**.

El tejido conjuntivo del endometrio puede reaccionar frente a la implantación. Estos cambios constituyen la reacción decidual y son particularmente evidentes en la placenta de los roedores y de muchos primates. En general, una reacción decidual extensa se acompaña de la eliminación de componentes maternos durante el parto. Por eso estas placentas son deciduas. En la mayoría de los animales domésticos la reacción decidual no existe o es leve y, por lo tanto, no se eliminan restos de endometrio en el parto, estas

placentas son adecuidas. Sin embargo, los rumiantes eliminan parte de su endometrio unos días después del parto, por lo que a sus placentas se las llama semidecíduas.

El tercer criterio **se basa en la morfología de las vellosidades**. Según este criterio las placentas humana, bovina y equina se denominan vellosas, debido a que las vellosidades coriónicas poseen una morfología digitiforme semejante a la de las vellosidades intestinales. En otros mamíferos, como la cerda, las vellosidades tienen forma de cresta, estas placentas se denominan rugosas. En la placenta felina estas estructuras son laminares, mientras que en la canina y murina poseen disposición muy irregular y las placentas se denominan laberínticas.

De acuerdo con **la distribución de las vellosidades coriónicas (clasificación anatómica o de Strahl)**, las placentas pueden ser difusas, cotiledonarias, zonales o discoideas. (**Fig. 3**).

En las placentas difusas las vellosidades coriónicas cubren toda la superficie del corion. Este tipo de placenta se encuentra en los porcinos, los equinos, los cetáceos y los camélidos. En el cerdo, existen apéndices necróticos lisos terminales y, por lo tanto, su placenta es semidifusa. En la placenta equina existen numerosas regiones pequeñas ricas en vellosidades coriónicas que se denominan microcotiledones.

Los rumiantes, con excepciones como *Tragulus javanicus* (ciervo ratón), poseen una placenta cotiledonaria, en la cual las vellosidades coriónicas forman estructuras discretas denominadas cotiledones. El cotiledón es un conjunto de vellosidades con abundantes vasos sanguíneos y tejido conectivo que se unen a áreas avasculares del endometrio, denominadas carúnculas, y en conjunto forman el placentoma. En las especies multicotiledonarias como la vaca, la oveja, la cabra y la jirafa, se observan decenas de cotiledones (en la jirafa llegan hasta 180). En cambio en las especies oligocotiledonarias, como la mayoría de los cérvidos, el número de cotiledones es mucho menor (3-12). Durante la histogénesis de los placentomas, existen procesos de inducción recíproca que determinan que las vellosidades coriónicas se interdigiten en forma exacta con el tejido caruncular. Los placentomas poseen distinta morfología según la especie; así, en la vaca son convexos (**Fig. 2**), en la oveja cóncavos y en la cabra poseen forma de cresta. Durante la gestación, los cotiledones aumentan su diámetro; en la vaca, hacia el final de la gestación miden entre 5 y 6 centímetros de diámetro.

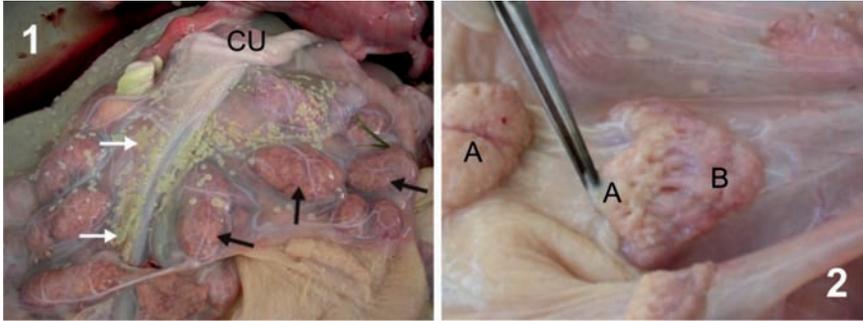


Figura 2. Placenta cotiledonaria en bovinos. 1. Las flechas negras señalan placentomas. Las flechas blancas señalan placas amnióticas. CU. Cordón umbilical. 2. Placentoma de bovino. A. Carúncula, B. Cotiledón. (Gentileza del CEDIVE –Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias. FCV).

Las placentas zonales o en cinturón de los elefantes, los sirénidos y la mayoría de los carnívoros, poseen una distribución anular de las vellosidades coriónicas. En los caninos y felinos existe una zona central de vellosidades coriónicas en forma de anillo completo (placenta zonal simple); en cambio, en ciertos mustélidos como el hurón y en algunos prociónidos como el mapache este anillo es incompleto y las vellosidades se distribuyen como dos herraduras que no alcanzan la región media (placenta zonal doble). Alrededor de la zona central se encuentra un área pigmentada constituida por hematomas que actúan como fuente de hierro.

La placenta discoide se desarrolla en xenartros, insectívoros, quirópteros, roedores, monos y humanos. Está constituida por uno o dos (en algunos monos) discos con vellosidades coriónicas. De este tipo de placenta deriva el nombre del órgano, ya que en la antigua Roma se llamaba placenta a una torta chata, nombre que derivaba del término griego *plagaos*, cuya forma recordaba a la de la placenta humana.

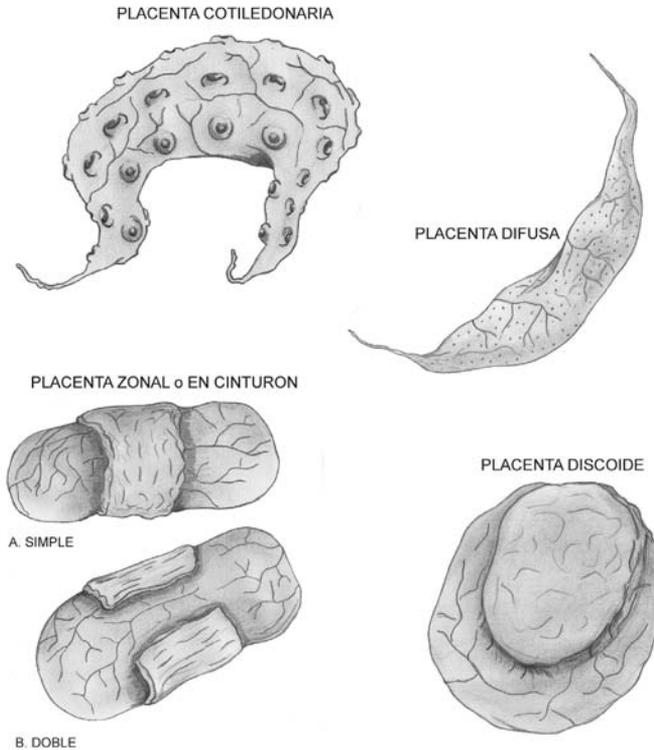


Figura 3. Clasificación anatómica de Strahl de las placentas.

La **clasificación histológica (de Grosser)** de las placentas se basa en la **cantidad de capas que conforman a la barrera placentaria** que separa la sangre fetal de la sangre materna. Una barrera placentaria completa está formada por seis capas que desde la sangre materna hasta la fetal son las siguientes: el endotelio materno, el tejido conectivo endometrial, el epitelio uterino, el trofoblasto (epitelio coriónico), el mesénquima corioalantoideo (o corio vitelino) y el endotelio de los vasos fetales. Existen diversas adaptaciones morfológicas para disminuir el espesor de esta barrera. Por ejemplo, en los camélidos se mantienen todas las capas; sin embargo, el adelgazamiento de los tejidos conectivos es muy pronunciado por lo cual contactan la lámina basal de los vasos con aquella de los epitelios.

Según las capas maternas que estén presentes las placentas reciben las siguientes denominaciones: **epiteliocorial**, **sindesmocorial**, **endoteliocorial** y **hemocorial**. (**Fig. 4**).

En la placenta epiteliochorial de equinos, suinos, camélidos, lemúridos y cetáceos se mantiene la totalidad de las capas. En general, estas placentas son también difusas y sus vellosidades ocupan una gran proporción de la superficie total del corion.

Los rumiantes también poseen una placenta epiteliochorial; sin embargo, durante muchas décadas se consideró que, al menos en los pequeños rumiantes esta placenta era de tipo sindesmochorial, debido a la pérdida del epitelio materno. Actualmente se sabe que el epitelio uterino no se pierde, sino que se fusiona con algunas células trofoblásticas para formar sincitios que tienen un doble origen: materno y fetal. En los bovinos existe un proceso semejante pero el resultado de la fusión, en la placenta madura, es la formación de células trinucleadas. Como consecuencia de esta fusión celular a esta variedad de placenta epiteliochorial se la denomina sinepiteliochorial. El proceso de fusión ocurre por que en el trofoblasto hay células gigantes que frecuentemente son binucleadas (células gigantes binucleadas o diplocariocitos) que migran desde el epitelio coriónico y alcanzan el epitelio endometrial con el que pueden fusionarse. A diferencia del resto de las células trofoblásticas, las células gigantes no poseen función absorbente, sino que secretan hormonas proteicas y esteroides, tal como se deduce de su ultraestructura.

En la placenta endoteliochorial, presente en elefantes y en la mayoría de los carnívoros, desaparecen el epitelio y el tejido conectivo endometrial, y los capilares maternos están directamente expuestos al trofoblasto que los envuelve. En la gata, persisten unas células especiales del tejido conectivo materno, denominadas células deciduales que no se encuentran en otros carnívoros. En general, en estas placentas se encuentra un trofoblasto sincitial sin límites celulares y en contacto con los vasos maternos y un citotrofoblasto con límites celulares marcados.

En la placenta hemochorial se pierden todas las capas maternas y existe contacto directo del epitelio coriónico con el lecho sanguíneo materno. Este tipo de placenta también posee sincitio y citotrofoblasto. La placenta hemochorial se encuentra en algunos quirópteros, xenartros, insectívoros, roedores, monos y humanos. En muchos casos, algunas células trofoblásticas invaden a los vasos maternos y alcanzan la circulación. Esto es muy marcado en la placenta humana; algunos autores han considerado que esta invasión extrema del trofoblasto facilita el gran desarrollo craneal del feto (Elliot and Crespi, 2008). Pese a que siempre la sangre materna contacta con el trofoblasto en este tipo de placenta, el número de capas de trofoblasto que separan ambas sangres es variable, por ejemplo en la placenta del hombre y de los roedores histriomorfos (vizcacha, cobayo, chinchilla, carpincho, etc.) es una sola (placenta monohemochorial), mientras que en la rata y ratón son tres (placenta trihemochorial) y en el conejo son dos (placenta **bihemochorial**). Esta característica hace que la placenta de los histriomorfos sea un modelo más comparable a la humana que la de otros roedores (Miglino *et al.*, 2002, Flamini *et al.*, 2010).

Los estudios filogenéticos actuales indican que las placentas primigenias de los euterios tendrían un contacto materno fetal íntimo y que podrían haber sido endoteliochoriales o hemocoriales. La placentación epiteliochorial habría sido una adaptación que apareció en numerosas ocasiones durante la evolución de los euterios de gran importancia para facilitar preñeces prolongadas y el nacimiento de crías más independientes (Carter and Mess, 2005, Vogel, 2005).

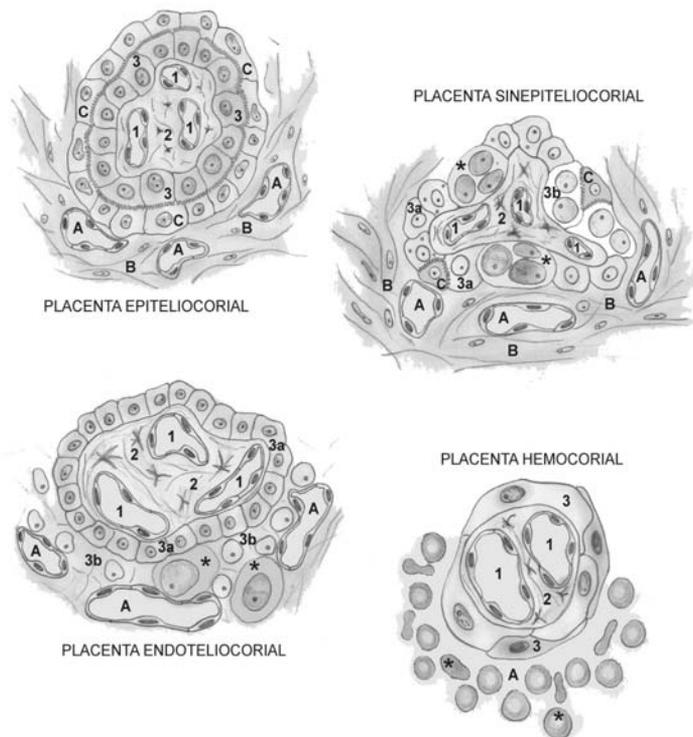


Figura 4. Clasificación histológica de Grosser.

PLACENTA EPIHELIOCORIAL: 1. Vasos sanguíneos fetales, 2. Tejido mesenquimático fetal, 3. Trofoblasto fetal. A. Vasos sanguíneos maternos, B. Tejido conectivo materno, C. Epitelio uterino materno.

PLACENTA SINEPIHELIOCORIAL: 1. Vasos sanguíneos fetales, 2. Tejido mesenquimático fetal, 3. Trofoblasto fetal: a) Célula trofoblástica mononuclear, b) Célula trofoblástica binuclear (diplocariocito). A. Vasos sanguíneos maternos, B. Tejido conectivo materno, C. Célula epitelial uterina materna. * Célula gigante trinucleada (resultante de la fusión del trofoblasto fetal con el epitelio uterino).

PLACENTA ENDOTEHELIOCORIAL: 1. Vasos sanguíneos fetales, 2. Tejido mesenquimático fetal, 3. Trofoblasto fetal: a) Citotrofoblasto, b) Sincitiotrofoblasto. A. Vasos sanguíneos maternos. * Célula decidual materna.

PLACENTA HEMOCORIAL: 1. Vasos sanguíneos fetales, 2. Tejido mesenquimático fetal, 3. Trofoblasto fetal. A. Sangre materna. * Eritrocitos.

Eje molecular

El estudio actual de las placentas incluye diversos aspectos de las moléculas que las componen.

La expresión genética en las células placentarias es muy específica e incluye numerosas variantes que dependen de la especie, del momento del desarrollo de la placenta y del componente del órgano considerado (Rossant y Cross, 2001). Dentro de los cambios epigenéticos, relacionados con la expresión génica y no con la estructura del gen, un hecho interesante es que el proceso de *imprinting* (en el que se expresa siempre el alelo derivado del mismo progenitor) es mucho más frecuente en la placenta que en otros órganos. Esta característica estaría involucrada en la patogenia del síndrome de fetos anormales descrito en bovinos nacidos por técnicas de reproducción asistida, en especial de transferencia nuclear y que se caracteriza por alteraciones en los placentomas y en consecuencia en los fetos (Migliano *et al.*, 2007).

Otros dos aspectos a tener en cuenta en este eje están relacionados con dos tipos de sustancias: moléculas de adhesión y enzimas líticas y sus inhibidores. Las sustancias que intervienen en los mecanismos de adhesión son glicoproteínas. Es evidente que ellas son fundamentales para los mecanismos de contacto que permiten el reconocimiento y la adhesión durante la implantación. Entre estas sustancias, las cadherinas del trofoblasto reconocen moléculas idénticas en el epitelio uterino, para establecer una unión de tipo homofílica. Otras, como las integrinas, se unen de manera heterofílica, ya que reconocen, en las células con las que se establecerá la unión, moléculas receptoras diferentes a ellas. Por último, se encuentran las lectinas, glicoproteínas que se unen específicamente a carbohidratos presentes en los glicolípidos y glicoproteínas de las membranas (Carson *et al.*, 1998).

Es evidente que cualquier alteración en estas sustancias genera anomalías en la implantación y la placentación y, probablemente impida un desarrollo prenatal normal.

Los procesos de implantación y placentación dependen de la acción coordinada de enzimas que degradan los tejidos y sus inhibidores. Este patrón enzimático es variable en las distintas especies animales (Cohen and Bischof, 2007).

Eje fisiológico

Las funciones que la placenta cumple durante la vida prenatal son las que desarrollan casi todos los sistemas del organismo después del nacimiento. Así, la nutrición, la excreción, la respiración, la protección y la regulación endocrina ocurren en este órgano.

La placenta regula el intercambio entre el feto y la madre. Dentro de las sustancias intercambiadas algunas son nutrientes que pasan de la madre al

feto y otras son productos de deshecho que lo hacen en sentido contrario. La nutrición del embrión y el feto puede ser de dos tipos: histiotrópica y hemotrópica. En el primer tipo los nutrientes son tomados por el trofoblasto a partir de detritus celulares y de la secreción de las glándulas uterinas. Este tipo de nutrición es muy importante al principio de la gestación, aunque persiste en muchas especies en las áreas de corion liso durante toda la gestación. Por este mecanismo se incorporan nutrientes y también algunos factores de crecimiento liberados por el útero, que son necesarios para un crecimiento y desarrollo normales de la placenta y del embrión.

La nutrición hemotropa es la que ocurre cuando el trofoblasto incorpora sustancias desde la sangre materna. Es característica de las regiones de corion con vellosidades.

El intercambio placentario involucra un número variado de mecanismos de transporte a través de membrana, tales como la difusión simple, la difusión facilitada, la endocitosis y el transporte activo (Fowden *et al.*, 2006). Los gases y el agua pasan desde un lugar de mayor concentración hacia uno de menor concentración por difusión simple. La glucosa y los aminoácidos, son transportados por difusión facilitada mediante transportadores específicos. Además, la placenta contiene bombas de transporte activo para diversos iones. Un caso muy particular es el del hierro que debe ingresar al embrión o feto para la hematopoyesis prenatal. En algunas especies este metal se une a proteínas ligadoras que son incorporadas por las células trofoblásticas mediante endocitosis. En otros casos, como en los carnívoros, aparecen hematomas en la parte materna de la placenta y el trofoblasto toma el hierro después de la hemocateresis (Blanco *et al.*, 2009, Wooding and Flynt, 1994, Wooding and Burton, 2008).

Si bien una descripción detallada del transporte placentario escapa al objetivo de este trabajo y esta fuera de nuestros ejes de estudio, que son básicamente el morfológico y el inmunológico, debe destacarse que también existe una gran variación entre las placentas de las distintas especies en cuanto a la permeabilidad a diversas sustancias, incluidos muchos tóxicos, y a agentes como virus y bacterias. Estas diferencias son importantísimas para realizar estudios farmacológicos, toxicológicos o microbiológicos en los que se utilicen modelos animales.

Dentro de las funciones de la placenta no debe olvidarse la producción de hormonas. La placenta produce mayor variedad y cantidad de hormonas que cualquier otro órgano. Estas hormonas actúan tanto sobre la madre como sobre el feto. Al igual que ocurre con el transporte, las diferencias en la función endocrina son altamente variables con la especie y su estudio escapa a nuestros objetivos actuales. Algunas de las hormonas producidas son las gonadotropinas, los estrógenos, la progesterona, los lactógenos, las leptinas, el factor de crecimiento semejante a insulina tipo 2 y la relaxina (Blanco *et al.*, 2009).

Eje inmunológico

Si bien los procesos inmunes podrían incluirse dentro del eje fisiológico su gran complejidad determina que sea interesante desarrollar para ellos un eje de estudio particular.

La inmunología de la preñez plantea un grave conflicto: ¿cómo mantener al embrión que expresa aloantígenos y, a la vez, impedir que los agentes infecciosos alcancen la interfase madre-*conceptus* y, de esta manera, comprometan la vida de ambos?

Ya en 1953 Paul Medawar, Premio Nobel de Medicina y pionero de los estudios sobre trasplantes y rechazo, planteaba el conflicto y proponía tres causas para explicar la ausencia de rechazo de la madre hacia el feto: la separación anatómica, la inmadurez antigénica del feto y la supresión inmune de la madre. Hoy se considera que ninguno de los tres mecanismos es totalmente cierto, ya que diversos experimentos demostraron que las células maternas alcanzan al feto y que el feto, a su vez, es capaz de generar una respuesta protectora en la madre, en lugar de ser rechazado. La interfase materno-fetal es un sitio de privilegio inmunológico, pero no de inmunosupresión. Los mecanismos que permiten este privilegio inmunológico son múltiples y difieren en distintas especies. Entre ellos se incluyen: la ausencia de antígenos de histocompatibilidad o la presencia de variantes de los mismos en el trofoblasto, la presencia de anticuerpos asimétricos que se unen a los antígenos pero no generan respuesta inmune y cambios en las células y sustancias que intervienen tanto en la inmunidad innata como en la adquirida (Chaouat *et al.*, 2002, Zenclunsen *et al.*, 2007).

Dentro de la inmunidad innata son fundamentales las células *Natural Killer* (NK), estas células han sido estudiadas en detalle en la decidua del ser humano, los roedores (Hunt *et al.*, 2000, Wegman *et al.*, 1993) y el cerdo, especie esta última en la que adquieren características morfológicas y funcionales muy particulares (Croy *et al.*, 2009). Estas células pueden participar del rechazo fetal, pero también son fundamentales para controlar la invasión trofoblástica. En rumiantes aún no se ha demostrado la presencia de células NK específicas del útero, pero parte de sus funciones son realizadas por los linfocitos gama-delta (Entrican, 2002).

En cuanto a la inmunidad adquirida, se ha considerado durante mucho tiempo que el balance entre la respuesta Th1 (T *helper* 1) y Th2 (T *helper* 2) es fundamental durante la preñez. En forma resumida, los linfocitos Th1 favorecen una respuesta mediada por células y son indispensables para activar el rechazo de injertos y la eliminación de células con parásitos intracelulares. Por el contrario, la respuesta en la que participan los linfocitos Th2 favorece a la inmunidad mediada por anticuerpos y protege el rechazo de tejidos injertados. La aparición de uno u otro tipo de respuesta tiene que ver con el tipo de citoquinas que producen las distintas variedades de linfocitos Th, por ejemplo el interferon

gama (IFN α), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la interleuquina 2 (IL2) son característicos de la respuesta Th1. Mientras tanto las interleuquinas 4 y 10 son típicas de la respuesta Th2 (Challis *et al.*, 2009, Chaouat, 2007, Saito, 2000). Estas citoquinas no solo son producidas por linfocitos, sino que también son secretadas por células de la inmunidad innata como las células NK y los macrófagos (Jameway *et al.*, 2003). La inmunidad de la interfase materno-fetal también posee una regulación hormonal; por ejemplo la progesterona induce una respuesta de tipo Th2 (Entrican, 2002).

En general las respuestas Th1 inducen la muerte embrionaria y el aborto. Por ejemplo, se encontró que en la neosporosis, tanto en bovinos como en modelos experimentales en ratones, se produce un incremento de citoquinas Th1, como IFN α que serían muy importantes en la patogenia del aborto. Estas citoquinas se producen en respuesta a la presencia de antígenos del protozoo en la membrana de las células del hospedador (Quinn *et al.*, 2002). Este hallazgo demuestra que más allá de las diferencias estructurales de la placenta de roedores y rumiantes y de particularidades en la respuesta inmune local de cada caso, existen mecanismos comunes que nos permiten utilizar modelos de animales de experimentación para estudiar las enfermedades de los animales de producción (Moffett and Loke, 2006, Zenclunsen *et al.*, 2007).

Si bien las citoquinas Th2 tienden a ser protectoras y las Th1 abortigénicas, en general se considera que existen 3 momentos inmunológicos en el útero durante la preñez. En un primer momento, coincidente con la implantación, existe un cambio muy semejante al que ocurre durante una respuesta inflamatoria, con predominio de citoquinas Th1. Luego, durante la placentación, la respuesta es típicamente Th2. Por último, al final de la preñez ocurren nuevamente cambios que recuerdan a un proceso inflamatorio con predominio de citoquinas Th1, lo que es necesario para producir la liberación del feto y de la placenta (Challis *et al.*, 2009, Chaouat, 2007, Terness *et al.*, 2007).

En nuestro laboratorio estamos estudiando posibles cambios en las células del sistema inmune y en las citoquinas de la interfase madre-feto en distintas enfermedades.

Introducción a la patología placentaria

La patología placentaria tiene varios aspectos que la hacen particularmente compleja. Es frecuente, que en muchos casos el órgano se elimine varios días después de haberse desarrollado la lesión. Además, en el campo, en numerosas ocasiones el órgano no se encuentra o aparece días después de la eliminación por lo que es muy probable la presencia de cambios autolíticos. Por otra parte, las lesiones suelen ser muy parecidas entre distintas enfermedades y en pocas ocasiones aparecen cambios que puedan considerarse específicos. En muchas enfermedades infecciosas, la lesión placentaria no es la consecuencia directa del microorganismo sobre las células

placentarias, sino que resulta de la consecuencia del daño vascular o del efecto de las células inmunes que tratan de destruir a los agentes injuriantes (Jubb *et al.*, 1993).

En nuestro trabajo consideramos la existencia de cinco pilares para comprender la patología placentaria y la patogénesis del aborto y la muerte fetal, ellos son: los cambios en la respuesta inmune, las lesiones circulatorias, los cambios hormonales, las modificaciones en las moléculas de adhesión y las alteraciones en la cinética de recambio tisular.

Interpretar la patología placentaria a partir del conocimiento de las características normales.

La subinvolución de sitios placentarios en la perra

En la segunda edición del excelente libro de patología general comparada, *Mechanisms of disease*, de Slauson and Cooper (1990), los autores aseveran que: «para ser un buen patólogo antes hay que ser un buen biólogo». Esta afirmación tiene mucho de cierto: el conocimiento de la estructura y la función normal es fundamental para comprender los cambios morfofisiológicos que ocurren durante los procesos mórbidos. Uno de nuestros primeros acercamientos a la patología placentaria lo demuestra.

La subinvolución de sitios placentarios (SSPP) de la perra es una entidad posparto caracterizada por hemorragias puerperales que en algunos casos requieren la histerectomía del animal. Entre las lesiones de la SSPP se caracteriza la presencia de grandes células en el endometrio. Durante muchos años se discutió si esas células eran células del trofoblasto que habían permanecido después de la preñez, o si correspondían a células deciduales, cuya existencia era incierta en la perra. Decidimos entonces realizar un estudio de la placenta normal de la perra que incluía técnicas de lectinohistoquímica para analizar sacáridos y de inmunohistoquímica para determinar filamentos intermedios. Los filamentos intermedios son componentes del citoesqueleto que nos permiten caracterizar tipos celulares ya que difieren entre diferentes poblaciones celulares. Por ejemplo, los filamentos intermedios de queratinas caracterizan a las células epiteliales, los de vimentina a distintas células del tejido conectivo y los de desmina a las musculares. Las células deciduales, por derivar de fibroblastos, son positivas a la marcación para reconocer vimentina. Sin embargo, nosotros no pudimos reconocer células positivas a este marcador con características morfológicas de deciduales (Fernández *et al.*, 2000). Cuando realizamos estudios semejantes en casos de SSPP, determinamos que las grandes células que aparecían en esta enfermedad eran reconocidas por los anticuerpos anticitoqueratinas como ocurría con el trofoblasto normal y que, además, el patrón de unión a lectinas se asemejaba al del citotrofoblasto (Fernández *et al.*, 1998). Por lo tanto, postulamos que estas eran células del trofoblasto que habían permanecido en el útero durante un puerperio anormal.

Los estudios ultraestructurales apoyaban desde hacia años la existencia de las células deciduales en la placenta felina (Leiser *et al.*, 1993), por lo tanto decidimos realizar en la gata un estudio semejante al desarrollado en la perra. Los resultados de los mismos demostraron que las grandes células positivas a vimentina eran de indiscutible origen fibroblástico (Barbeito *et al.*, 2004). (**Fig. 5**).

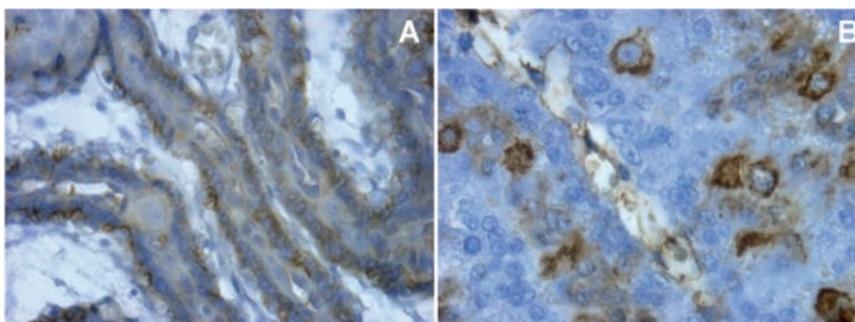


Figura 5. Inmunohistoquímica en la zona laminar de la placenta felina. A. Trofoblasto positivo para el anticuerpo anticitoqueratina. Inmunohistoquímica. 10 X. **B.** Células deciduales positivas al anticuerpo antivimentina. Inmunohistoquímica 40 X

Actualmente estamos profundizando los estudios morfológicos e histoquímicos en la placenta felina. Consideramos que posiblemente las células deciduales de la gata posean algunas de las funciones que presentan en otras especies y que, por lo tanto, actúen controlando la invasión trofoblástica. De esta manera podría explicarse por qué la gata no presenta SSPP, ya que las células deciduales inhibirían una invasión trofoblástica anormal.

Cuando lo normal parece patológico. El extraño caso de la vizcacha de llanura

La vizcacha de llanura (*Lagostomus maximus*) es un roedor perteneciente al orden Rodentia, suborden Hystricognathi, familia Chinchillidae, género *Lagostomus*. La reproducción de esta especie presenta algunas características poco frecuentes en los mamíferos euterios, tales como un ovario con forma cordonal, poliovulación (con la liberación de alrededor de 200-800 ovocitos) y una glándula prostática femenina o parauretral bien desarrollada (Flamini *et al.*, 2002, 2009). Pero en relación con el estudio de la placenta el aspecto más saliente es la alta mortalidad embrionaria. Se implantan alrededor de 6 embriones por cuerno uterino, pero luego solo persiste por lo general solo un embrión de cada lado, siempre el más cercano al cuello uterino, el resto adquieren color pardo o negro y carecen de estructura definida. El estudio histológico muestra claramente que son casos de resorcciones embrionarias (Flamini *et al.*, 2007), semejantes a las que ocurren en otras especies de roedores, ocasionalmente durante la preñez normal o en condiciones patológicas. Actualmente en nuestro laboratorio se están estudiando tanto las reabsorcciones como la placenta que se forma en las implantaciones que

persisten. En estas últimas, los estudios preliminares (Flamini *et al.*, 2010) nos muestran una estructura semejante a la de otros roedores del grupo (Mess, 2003, Miglino *et al.*, 2002), que sin embargo, no muestran las características particulares de la reproducción femenina de la vizcacha. (Fig. 6)

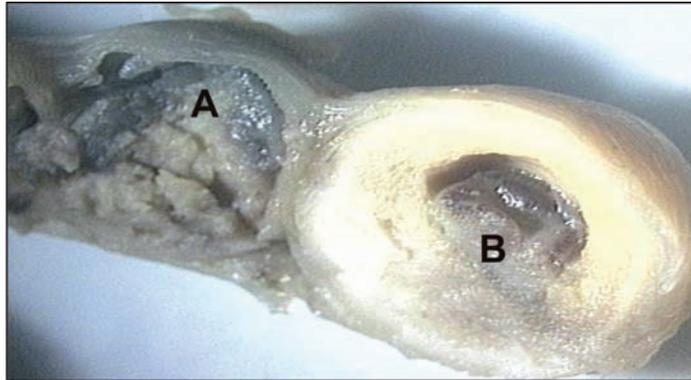


Figura 6. Útero grávido de vizcacha. A. Reabsorción embrionaria. B. Embrión normal.

El uso de modelos murinos para el estudio de enfermedades de la placenta y la preñez en animales de producción.

Corbeil (1980) luego de realizar un análisis de las características que deben tener los modelos animales para enfermedades reproductivas humanas, postuló («las enfermedades que se producen en animales deben tener características similares a las de la infección humana, tanto desde la vía de infección, los signos y síntomas, los cambios patológicos, la duración y el espectro y síndromes que genera en la población»). Nosotros consideramos que esta sentencia también debe tenerse en cuenta cuando utilizamos animales de laboratorio como modelo de estudio de enfermedades de animales domésticos y, por lo tanto, aplicamos este concepto para el desarrollo de los modelos murinos para analizar la patogenia de la tritrichomonosis bovina y la herpesvirosis equina de tipo 1.

Tritrichomonosis bovina

La tritrichomonosis genital bovina es una enfermedad venérea producida por el protozoo flagelado no invasivo *Tritrichomonas foetus* (Felleisen, 1999).

La transmisión de la enfermedad es por vía sexual, tanto como consecuencia del servicio natural como a posteriori de una inseminación artificial (Cobo y Campero, 2002). Las hembras bovinas, al contagiarse con *T. foetus*, no pueden preñarse durante 2 o 3 ciclos o presentan pérdidas embrionarias tempranas sin retención placentaria. Las lesiones que se asocian a estos signos clínicos incluyen vaginitis, cervicitis, endometritis, salpingitis y, ocasionalmente, piómetra. Todas estas lesiones son inespecíficas. La descarga

vulvar que puede acompañar al proceso es de intensidad y frecuencia variable (Jubb *et al.*, 1993). En algunos casos se produce aborto en etapas más avanzadas de la gestación (Felleisen, 1999). El estudio histopatológico muestra un infiltrado perivascular de células mononucleares en la vagina y en el útero.

Estos cambios incluyen desde endometritis interplacentaria con un infiltrado de polimorfonucleares y macrófagos, hasta una inflamación crónica caracterizada por abundantes células mononucleares, especialmente alrededor de los vasos y las glándulas. En los placentomas se observa infiltración con polimorfonucleares y macrófagos (Parsonson *et al.*, 1976). En el tejido mesenquimático del corion hay edema. En cambio, en los machos infectados solamente se produce una balanopostitis de corta duración (Jubb *et al.*, 1993).

En los fetos abortados las lesiones macroscópicas pueden ser inaparentes o puede detectarse hepatomegalia y bullas enfisematosas subpleurales y peritoneales. En el estudio histopatológico de algunos fetos se observa bronconeumonía granulomatosa y enteritis necrosante. La técnica de inmunohistoquímica permite detectar los protozoarios en el tejido pulmonar de los fetos, tanto en forma libre en los bronquios, los bronquiolos y los alvéolos como en el interior de macrófagos y células gigantes; ocasionalmente se observa una necrosis hepática centrolobulillar (Rhyan *et al.*, 1988, Rhyan *et al.*, 1995a, Rhyan *et al.*, 1995b, Cobo y Campero, 2002).

Se sabe que este microorganismo es citotóxico para células del epitelio vaginal de bovino (Singh *et al.*, 1999). Sin embargo, no se conoce la patogenia de la muerte embrionaria temprana en la infección con este flagelado, habiéndose postulado algunos mecanismos tales como la secreción de proteasas ricas en cisteínas por parte de los microorganismos, que alterarían las moléculas de adhesión del trofoblasto (Bon Durant, 1997, Thomford *et al.*, 1996). Algunas enzimas producidas por el parásito como la β -glucosidasa, la β -N-acetilglucosaminidasa y la α -manosidasa actúan sobre el mucus de la vagina, y generarían un medio hostil que favorecería la infección (Felleisen, 1999). Además estas enzimas podrían ser las responsables de la modificación en los carbohidratos de las células de los epitelios vaginales y uterinos determinadas mediante la técnica de lectinohistoquímica en vaquillonas infectadas experimentalmente (Cobo *et al.*, 2004).

La importancia de las pérdidas económicas generadas por la infección con *T. foetus* y las dificultades a las que lleva el uso del bovino como animal de experimentación, fueron determinantes para la búsqueda de modelos experimentales en los que se desarrolle la enfermedad.

Se probaron para ello distintas especies como conejos (MacDonald *et al.*, 1948), que se infectaron de forma inconstante, cobayos (Maestroni and Semar, 1967), en los que no se consiguieron reproducir lesiones vaginales en las hembras, y hamsters, en los que aparecieron contaminaciones con tricomonas intestinales. Los resultados obtenidos con ratones tampoco fueron demasiado satisfactorios hasta que se presentó el modelo de ratones BALB/c

previamente estrogenizados (St Claire *et al.*, 1994, Hook *et al.*, 1995, Van Andel *et al.*, 1996).

Mediante este modelo se infectaron intravaginalmente hembras previamente inyectadas con estrógenos y se consiguió mantener animales infectados durante 26 semanas. Las lesiones vaginales y uterinas ya se manifestaban en los ratones a las 4-6 semanas posinfección y se asemejaban a las descritas en bovinos (Van Andel *et al.*, 1996). En nuestro país se diseñó un modelo semejante, pero con el que se consiguió la reproducción de la enfermedad mediante el uso de dosis bajas de estrógenos para sincronizar el estro, lo que disminuye los cambios generados por el efecto hormonal (Soto *et al.*, 2005). El mismo modelo permitió reconocer la fagocitosis de los protozoarios por parte de los eosinófilos mediante el empleo de la microscopía electrónica (Monteavaro *et al.*, 2007) y reproducir las lesiones uterinas y los cambios en los sacáridos de los epitelios genitales (Monteavaro *et al.*, 2008) encontrados en las vaquillonas por Cobo *et al.* (2004).

Las modificaciones encontradas en los residuos de carbohidratos de los glicoconjugados de membrana nos llevan a especular que las enzimas producidas por *T. foetus* generan estos cambios con el objetivo de facilitar la adhesión del parásito. Como un efecto secundario estos cambios alterarían los procesos de implantación y placentación en los que los carbohidratos de superficie cumplen funciones fundamentales. (Fig. 7).

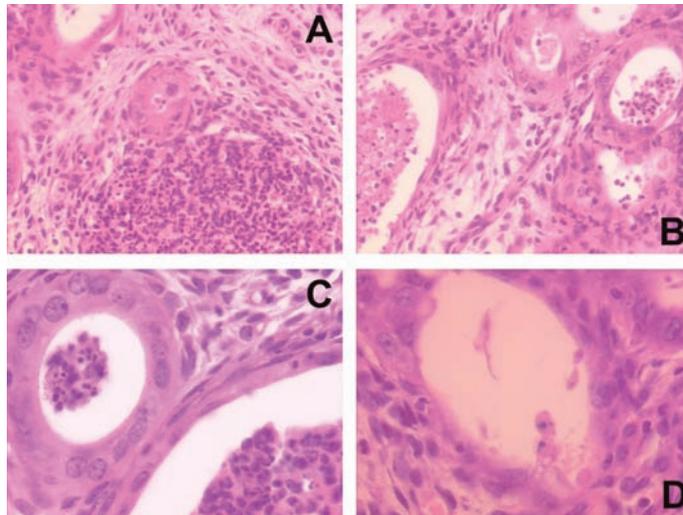


Figura 7. Cortes histológicos de úteros de ratonas preñadas infectadas con *Trichostrongylus foetus*. A. Abundante reacción inflamatoria en el endometrio. Hematoxilina y Eosina 10X. **B.** Exudado inflamatorio en el interior de las glándulas endometriales. Hematoxilina y Eosina 10X. **C.** Exudado inflamatorio en el interior de las glándulas endometriales. Hematoxilina y Eosina 40X. **D.** Presencia de protozoarios en la luz de las glándulas y adheridos al epitelio glandular.

Más recientemente hemos logrado con el mismo modelo, por primera vez, preñar ratonas previamente infectadas. Observamos en este caso que la mayoría de las pérdidas del *conceptus* ocurrían entre las etapas temprana y media de la preñez y, además, cuando se llegaba a periodos avanzados de gestación, la hembra se negativizaba para el protozoario (Barbeito *et al.*, 2008). Estos resultados nos permiten especular que existen cambios en la respuesta inmune local y que esos cambios pueden llevar a la pérdida del *conceptus* en algunas ocasiones, pero otras veces consiguen la eliminación de los parásitos y la preñez puede terminarse. Decidimos entonces analizar la expresión de los ARNm de distintas citoquinas, algunos resultados preliminares (Woudwyk *et al.*, 2010) nos muestran un incremento tanto de los ARN de citoquinas Th1 como Th2, lo que difiere de lo encontrado en otras protozoosis como neosporosis (Quinn *et al.*, 2002) en la que se generó una respuesta Th1 típica, deletérea para la preñez. Sin embargo, debe destacarse que en esos casos los protozoarios son de vida intracelular a diferencia de lo que ocurre en la tritricomonosis, probablemente el único ejemplo de enfermedad abortigénica producida por un protozoo de vida extracelular.

Herpesvirosis equina tipo 1

Entre los patógenos que generan trastornos reproductivos en los equinos se destaca el herpesvirus equino tipo 1 (EHV-1). Este virus pertenece a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae y género Varicellovirus (International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTVdB Management, 2006), posee distribución mundial y es endémico en algunos países.

La morbilidad de la enfermedad es alta y la infección se dispersa por saliva, descargas nasales o, fuentes de agua o alimento contaminadas (Allen *et al.*, 1986).

La principal puerta de entrada del virus es el epitelio respiratorio, al que infecta y produce rinoneumonitis, caracterizada por fiebre, anorexia y descarga nasal y ocular de diferente magnitud (Allen *et al.*, 1986). Al igual que en otros alphaherpesvirus, la entrada del EHV-1 se produce o bien por fusión de la envoltura viral con la membrana celular o por endocitosis seguida de fusión de la envoltura con la membrana del endosoma. En cualquiera de los dos casos, las proteínas del tegumento y las nucleocápsides son liberadas al citoplasma. En EHV-1 se ha demostrado el reconocimiento y la adhesión de las glicoproteínas virales (g) B y C al heparán sulfato de la matriz extracelular. Además, otra glicoproteína la gD, se une a glicosaminoglicanos y su presencia es necesaria para la entrada del virus a la célula (Csellner *et al.*, 2000).

La replicación primaria del virus ocurre en el epitelio de las vías respiratorias superiores (Kydd *et al.*, 1994, Patel *et al.*, 1982) y en los nodos linfáticos locales (Kydd *et al.*, 1994) desde allí puede efectuar una viremia asociada a leucocitos (linfocitos T y monocitos) (Dutta *et al.*, 1983, Scott *et al.*, 1983). Estos leucocitos se infectan de forma latente. La viremia permite la

llegada del virus al endotelio de los vasos sanguíneos del sistema nervioso central y del útero grávido (Smith *et al.*, 1999). Luego de a infección endotelial se producen focos de vasculitis y trombosis que pueden causar un síndrome neurológico o aborto, según se afecten los vasos sanguíneos del sistema nervioso o el útero preñado, respectivamente (Patel *et al.*, 1982, Edington *et al.*, 1986, Edington *et al.*, 1991). Estas lesiones también se presentan en animales en los que ante un estado de inmunosupresión ocurre la reactivación de la infección a partir de los leucocitos que quedaron infectados de forma latente luego de la infección primaria aguda. Este estado de latencia permite al virus refugiarse de la respuesta inmune, si bien el genoma viral silenciado puede reactivarse y comenzar la producción de proteínas virales bajo ciertas circunstancias, como la inmunosupresión. En forma experimental, se logró reactivar el genoma viral de *EHV-1* tanto en el hospedador natural como en un modelo murino a partir de la administración de corticosteroides (Slater *et al.*, 1994). El cambio de perfil inmune que ocurre durante la gestación permite que, en las yeguas infectadas, el virus se reactive y provoque el aborto.

En general, las infecciones uterinas en el equino aparecen en el último tercio de la gestación (Doll and Bryans, 1963), y pueden llevar a distintos desenlaces según la interacción entre la cepa viral y la respuesta inmune del hospedador (Smith *et al.*, 1999). Si la vasculitis y la trombosis son intensas la yegua puede abortar un feto negativo para el virus como consecuencia del desprendimiento abrupto de la placenta sin que el virus atravesase la barrera placentaria. Cuando las lesiones vasculares son más leves puede ocurrir que el virus pase la barrera feto-placentaria y se aborte un feto infectado. Si la infección aparece muy cerca del término de la gestación puede nacer un potrillo vivo e infectado que usualmente muere a los pocos días (muerte perinatal) (Smith *et al.*, 1999).

Modelo murino de la infección equina por EHV-1

Los costos y las dificultades para realizar ensayos que permitan estudiar la patogenia de la enfermedad en equinos son muy grandes y, por lo tanto, desde hace años se intentó desarrollar modelos para estudiar la patogenia en animales de laboratorio. Los primeros intentos, en ratón y hámster, no fueron del todo satisfactorios (Wilks y Coggins, 1977; Patel *et al.*, 1983; Nowotny *et al.*, 1987; Stokes *et al.*, 1996). Recién en 1990 Awan y colaboradores reprodujeron los signos respiratorios de la enfermedad del caballo tras inocular intranasalmente a ratones de la cepa BALB/c (Awan *et al.*, 1990). Un año más tarde, el mismo grupo propuso el mismo modelo para estudiar la patogenia del aborto por EHV-1 (Awan *et al.*, 1991). Recientemente, Gosztonyi logró reproducir la infección en el sistema nervioso en la misma cepa de ratón utilizando idénticas vías de inoculación (Gosztonyi *et al.*, 2009). La infección intranasal en ratones genera signos respiratorios, disnea y polipnea, a partir de las 24 horas y hasta 12 días después de la infección. Los ratones presentan pelo hirsuto, postura encorvada, actividad disminuida, agrupamiento entre congéneres, deshidratación, pérdida de peso y en ocasiones conjuntivitis

mucopurulenta. Los signos neurológicos son muy raros, aunque se ha reportado paresia de extremidades (Awan *et al.*, 1990). Las lesiones incluyen necrosis de los epitelios bronquial y bronquiolar e infiltrado inflamatorio alrededor de bronquios y bronquíolos (Galosi *et al.*, 2004). Pese a que en ratonas infectadas se ha podido aislar el virus de feto, placenta y útero (Awan *et al.*, 1991), no se había descrito lesiones uterinas en las hembras preñadas. En un trabajo de nuestro grupo (Martín Ocampos *et al.*, 2009a) hemos conseguido reproducir en ratonas con preñeces de 12 días, la endometritis descrita previamente en equinos. Asimismo, también hemos realizado estudios acerca de los aspectos filogenéticos del *EHV-1* que hasta el momento parecen demostrar que la capacidad de producir aborto es una condición ancestral del virus (Martín Ocampos *et al.*, 2009b). (Fig. 8)

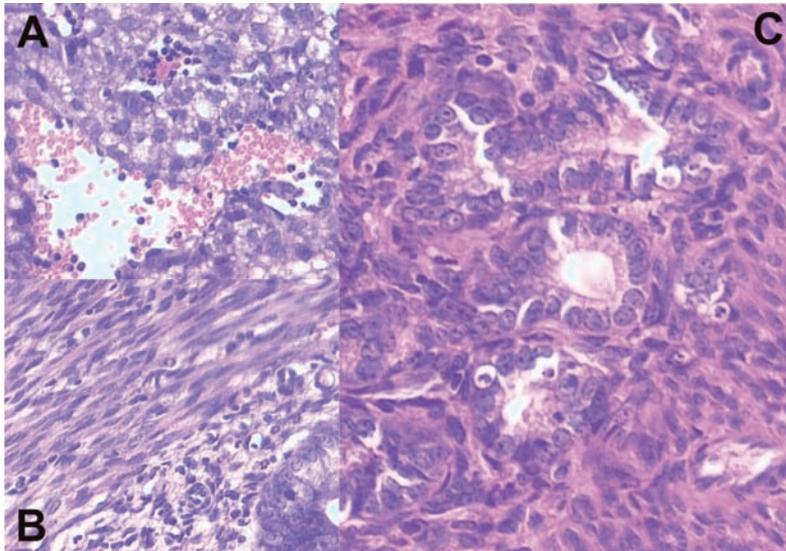


Figura 8. Herpesvirosis equina en un modelo murino. A. Reacción inflamatoria en la placenta del día 12 de preñez. Hematoxilina y Eosina 20 X. **B.** Endometritis en una ratona infectada preñada. Hematoxilina y eosina 20X. **C.** Muerte celular en las glándulas uterinas. Hematoxilina y espina 40X.

Entre los objetivos futuros de nuestro equipo de investigación nos propusimos estudiar con detalle la respuesta inmune innata y adquirida en hembras preñadas mediante el uso del modelo ratón. También intentaremos reproducir las reactivaciones de la infección durante la preñez, así como establecer posibles cambios cuantitativos en las poblaciones de linfocitos, monocitos y macrófagos, tanto en sangre como en la unidad feto-placentaria en los animales infectados en distintos momentos de la preñez. De gran interés también será lograr establecer cuáles son las poblaciones de leucocitos infectadas por el virus durante la fase virémica, así como determinar si existen cambios según el momento de la preñez en que ocurre la infección.

Reflexiones finales

La placenta es un órgano complejo para su estudio, tanto en condiciones normales como patológicas. Cuestiones de manejo y económicas hacen muy difícil el desarrollo de experimentos para estudiar algunos aspectos de la patología placentaria en grandes animales.

Como estudiosos de algún aspecto de la vida no podemos dejar de asombrarnos ante la diversidad de la misma. Esta variabilidad lleva a que cualquier regla que se intente plantear en biología encuentra excepciones. El biólogo Ernst Mayr (2006) planteaba que: «La única ley que en biología no tiene excepciones es que toda ley tiene excepciones». Según este autor esa particularidad hacia imposible emplear en la biología algunos modelos epistemológicos surgidos de la física como el falsacionismo de Popper. Sin embargo, desde la publicación de «El Origen de las Especies» de Charles Darwin en 1859, pocos discuten que existe una unidad de origen en los seres vivos y que esta unidad de origen se manifiesta tanto morfológica como molecularmente. Unidad y diversidad son, como lo expresa Stephen J. Gould, el resultado de que «La vida es el producto de un pasado contingente, no el resultado inevitable y predecible de unas leyes simples y atemporales de la naturaleza» (Gould, 1987).

Podríamos preguntarnos entonces si ante la diversidad es válido el uso de modelos. Pero si no utilizamos modelos se genera una paradoja, ya que sin la extrapolación de resultados cómo podemos lograr generalizaciones que nos permitan comprender los procesos fundamentales de la vida. La unidad de la vida respalda el uso de modelos, el origen común permite inferir que habrá semejanzas. Entonces surge una nueva pregunta, Como seleccionar el modelo. Obviamente debemos buscar el modelo posible más semejante filogenéticamente a nuestro objeto final de estudio. Si se quiere estudiar el desarrollo del ojo humano, se aprenderá más estudiando el proceso en el ratón que en la mosca. Aunque, en los últimos años se ha demostrado que los genes que se activan para iniciar el desarrollo de este órgano son los mismos en artrópodos y vertebrados, demostrando nuevamente la unidad de origen (Gilbert, 2005). La organogénesis del ratón presenta muchas más similitudes con el hombre que la de la mosca. ¿Por qué no usar en ese caso un modelo en mono, más cercano filogenéticamente al humano? Cuestiones éticas, económicas y de manejo, hacen preferible el uso del ratón. Algo semejante nos pasa cuando empleamos modelos para estudiar las enfermedades de la reproducción en grandes animales. El uso de modelos en rata o ratón permite obtener animales de alta semejanza genética, mantenidos en condiciones estandarizadas y con un ciclo de vida muy corto. Por otra parte el costo, el manejo y los requerimientos de espacio son muchísimo menores que si trabajáramos con grandes animales. Además, en los últimos años el desarrollo de ratones transgénicos, por ejemplo aquellos con genes noqueados, permite el diseño de experimentos específicos para estudiar el efecto *in vivo* de distintas moléculas. Siguiendo lo expresado por Corbeil (1980) referente al uso de

modelos animales para estudiar la patología de la reproducción humana, debemos buscar modelos en los que obviamente la enfermedad se reproduzca en forma semejante a la que ocurre en el hospedador natural del microorganismo. Como se mencionó anteriormente, en la herpesvirosis equina de tipo 1 y en la tritricomonosis bovina, el uso de ratones BALB/c está avalado por numerosísimos trabajos y muchos aspectos de la enfermedad natural se han podido reproducir. Obviamente, que hay que analizar con detalle todo resultado antes de extrapolarlo, pero este es un hecho constante en cualquier rama de la biología. Creemos que en el estudio de la biología y la patología placentaria podemos aplicar el concepto que Gilbert (2005) expresara para la biología del desarrollo cuando dice que es una ciencia «reduccionista en su metodología pero holística en su ontología».

Debemos entonces analizar cuidadosamente nuestros resultados particulares e integrarlos al conocimiento general. Sabiendo a la vez que cada aporte puede ser la excepción que queda en el hecho particular, pero también puede ser un eslabón fundamental para comprender procesos generales. Es que, como expresó Gregory Bateson (1982), en ciencia: «Solo rigor es la parálisis mortal, pero solo imaginación es insania».

BIBLIOGRAFIA

1. Allen GP, Bryans JT. (1986). Molecular Epizootiology, pathogenesis, and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections. *Prog Vet Microbiol Immunol*, 2: 78-144.
2. Amoroso EC. (1968). The evolution of viviparity. *Proc Roy Soc Med* 61:1188-1200.
3. Awan AR, Chong Y, Field HJ. (1990). The pathogenesis of equine herpesvirus type 1 in the mouse: a new model for studying host responses to the infection. *J Gen Virol*, 71: 1131-1140.
4. Barbeito CG (2008) Historia de las placentas y su relación con la morfología. Ciencias Morfológicas. Conferencia dictada en el marco del X Congreso y 7^{mas} Jornadas de educación de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata. *Ciencias Morfológicas*, Año 10, Vol. X, N° 10 - DICIEMBRE 2008.
5. Barbeito CG, Fernández PE, Gimeno EJ, Portiansky EL. (2004). Immunohistochemical and morphometric study of the decidual cells in the domestic cat placenta. *Biocell*, 28: 229.
6. Barbeito CG, Woudwyk M, Cacciato C, Soto P, Portiansky E, Catena M, Echavarría H, Gimeno E, Monteavaro C. (2008). *Tritrichomonas foetus*: experimental infection in pregnant BALB/c mice. *Exp Parasitol*, 120: 156-160.
7. Bateson G. (1982). Espiritu y naturaleza. Ed. Amorrortu. Bs.As. Argentina.

8. Björkman N. (1973). Fine structure of the fetal-maternal area of exchange in the epitheliochorial and endotheliochorial types of placentation. *Acta Anat*, 86: 1-22.
9. Blanco P, Gobello C, Barbeito CG. (2009). Placentación y endocrinología de la gestación en: Gobello C, Manual de Fisiología reproductiva veterinaria. Ed UNLP. La Plata. Buenos Aires. Argentina. pp. 45-51.
10. Bon Durant R. (1997). Pathogenesis, diagnosis and management of trichomoniasis in the cattle. *Bull infertility*, 13: 345-361.
11. Cobo ER y Campero CM. (2002). Nuevos aspectos inmunológicos y vacunales de la tricomoniasis bovina. *Rev Med Vet*, 83: 203-208.
12. Cobo ER, Campero CM, Gimeno EJ and Barbeito CG. (2004). Lectin binding patterns and Immunohistochemical detection in the genitalia of *Trichomonas foetus*-infected heifers. *J Comp Pathol*, 131: 127-134.
13. Carson DD, DeSouza MM, Regisford GC. (1998). Mucin and proteoglycan functions in embryo implantation. *BioEssays*, 20: 577-583.
14. Carter AM, Mess A. (2007). Evolution of the placenta in eutherian mammals. *Placenta*, 28: 258-262.
15. Challis JR, Lockwood CJ, Myatt L, Norman JE, Strauss JF, Petraglia F. (2009). Inflammation and Pregnancy. *Reprod Sci*, 16: 206-215.
16. Chaouat G. (2002). A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface wich might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. *J Reprod Immunol*, 53: 241-246.
17. Chaouat G. (2007). The Th1/Th2 paradigm: still important in pregnancy? *Sem Immunopathol*, 29: 95-113.
18. Cohen M, Bischof P. (2007). Factors regulating trophoblast invasion. *Gynecol Obstet Invest*, 64: 126-130.
19. Corbeil LB. (1980). Criteria for development of animal models of diseases of the reproductive system. *Am J Pathol*, 101: S242-S252.
20. Cross JC, Baczyk D, Dobric N, Hemberger M, Hughes M, Simmons DG. (2003). Genes, development and evolution of the placenta. *Placenta*, 24: 123-130.
21. Croy BA, Wessels J, Linton N, Tayade C. (2009). Comparision of immune cell recruitment and function in endometrium durin development of Epitheliochorial (Pig) and hemochorial (Mouse and Human) placentas. *Placenta*, 23: 23-31.

22. Csellner H, Walker C, Wellington JE, McLure LE, Love DN, Whalley JM. (2000). EHV-1 glycoprotein D (EHV-1 gD) is required for virus entry and cell-cell fusion, and an EHV-1 gD deletion mutant induces a protective immune response in mice. *Arch Virol*, 145: 2371-2385.
23. Doll ER, Bryans JT. (1963). Incubation periods for abortion in equine viral rhinopneumonitis. *J Am Vet Med Assoc*, 141: 351-354.
24. Dutta SK, Myrup AC. (1983). Infected centre assay for intracellular virus and infective virus titre of equine lymphocytes infected in vivo and in vitro with equine herpesvirus. *Can J Comp Med*, 47: 64-69.
25. Edington N, Bridges CG, Patel JR. (1986). Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis induced by equid herpesvirus-1: equine stroke. *Arch Virol*, 90: 111-124.
26. Edington N, Smith B, Griffiths L. (1991). The role of endothelial cell infection in endometrium, placenta and fetus of equid herpesvirus-1 abortions. *J Comp Pathol*, 104: 378-387.
27. Elliot MG, Crespi BJ. (2008). Placental invasiveness and brain-body allometry in eutherian Mammals. *J Evol Biol*, 21: 1763-1778.
28. Enders AC, Carter AM. (2004). What can comparative studies of placental structure tell us? *Placenta*, 25 SupplA, *Trophoblast Res*, 18: S3-S9.
29. Enders AC, Carter AM. (2006). Comparative placentation: some interesting modifications for histotrophic nutrition – A review. *Placenta*, 27 SupplA: 11-16.
30. Entrican G. (2002). Immune regulation during pregnancy and host pathogen interactions in infectious abortion. *J Comp Pathol*, 126: 79-94
31. Felleisen RS. (1999). Host- parasite interaction in bovine infection with *Tritrichomas foetus*. *Microbes Infect*, 1: 807-816.
32. Fernández PE, Barbeito CG, Portiansky EL, Gimeno EJ. (2000). Intermediate filament proteins expression and sugar moieties of the normal canine placenta. *Histol Histopathol*, 15: 1-6.
33. Fernández PE, Portiansky EL, Barbeito CG, Gimeno EJ. (1998). Characterization of Cytotrophoblastic-like cells present in subinvolutioned placental sites of the bitch. *Histol Histopathol*, 13: 995-1000.
34. Flamini MA, Portiansky EL, Favaron PO, Martins D, Ambrósio CE, Mess A, Miglino MA, Barbeito CG. (2010). Placentation in *Lagostomus maximus* «plain viscacha» (Rodentia, Chinchillidae). Aceptado para su presentación en el Congreso de la IFPA. Santiago de Chile. Octubre 2010.

35. Flamini MA, Barbeito CG, Gimeno EJ, Portiansky EL. (2002). Morphological characterization of the female prostate (Skene's gland or parauretral gland) of *Lagostomus maximus maximus*. *An Anat*, 184: 341-345.
36. Flamini MA, Barbeito CG, Gimeno EJ, Portiansky EL. (2009). Histology, Histochemistry and Morphometry of the ovary of the adult plains viscacha in different reproductive stages. *Acta Zool (Stockholm)*, 90: 390-400.
37. Flamini MA, Portiansky EL, Barbeito CG. (2007). Descripción morfológica de las reabsorciones embrionarias encontradas en la vizcacha de llanura (*Lagostomus maximus maximus*). Actas del XLIV Congreso Argentino de Anatomía. La Plata. Argentina.
38. Fowden AL, Ward JW, Wooding FPB. (2006). Programming placental nutrient transport capacity. *J Physiol*, 572: 5-15.
39. Galosi CM, Barbeito CG, Vila Roza MV, Cid de la Paz V, Ayala M, Corva SG, Etcheverrigaray ME, Gimeno EJ. (2004). Argentine strain of equine herpesvirus 1 isolated from aborted foetus shows low virulence in mouse respiratory and abortion models. *Vet Microbiol*, 103: 1-12.
40. Gilbert S. (2005) Biología del desarrollo. Ed. Panamericana. Buenos Aires. Argentina.
41. Gosztonyi G, Borchers K, Ludwig H. (2009). Pathogenesis of equine herpesvirus-1 infection in the mouse model. *APMIS* 117: 10-21.
42. Gould SJ. (1987). La sonrisa del flamenco. Ed. Blume. Barcelona. España.
43. Grier HJ, Uribe MC. (2005). Viviparous fishes. New Life Publications, Hornstead, Florida. USA.
44. Haines AN, Flajnik MF, Wourms JP. (2006). Histology and immunology of the placenta in the Atlantic sharpnose shark, *Rhizoprionodon terraenovae*. *Placenta*, 27: 1114-1123.
45. Hayakawa S. (2006). No cancer in cancers: Evolutionary trade-off between successful viviparity and tumor escape from the adaptative immune system. *Med hypotheses*, 66: 888-897.
46. Hook RR, St. Claire M, Riley L, Franklin C, Bessch- Williford CL. (1995). *Trichostrongylus axei*: Comparison of Isolate Virulence in an Estrogenized Mouse. *Model Exp Parasitology*, 81: 202-207.
47. Hunt JS, Petroff MG, Burnett TG. (2000). Uterine leukocytes: key players in pregnancy. *Sem Cell Tiss Dev*, 11: 127-137.

48. ICTVdB Management. (2006) Varicellovirus. In: ICTVdB -. The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/fr-fst-a.htm#H>).
49. Jameway C, Travers P, Walpoer M, Shlomchik. (2003). Inmunobiología. Ed. Masson. Barcelona. España.
50. Jubb KV, Kennedy PC, Palmer N. (1993). Pathology of Domestic Animals. 4 ed. Ed. Academic Press. USA.
51. Kydd JH, Smith KC, Hannant D, Livesay GJ, Mumford JA. (1994). Distribution of equid herpesvirus-1 in respiratory tract-associated lymphoid tissue: implications for cellular immunity. *Equine Vet J*, 26: 470-473.
52. Leiser R, Kaufmann P. (1994). Placental structure: in a comparative aspect. *Exp Clin Endocrinol*, 102: 122-134.
53. Leiser R, Koob B. (1993). Development and characteristics of placentation in a carnivore, the domestic cat. *J Exp Zool*, 266: 642-656.
54. Leiser R, Pfarrer C, Abd-Elnaeim M, Dantzer V. (1998). Feto-maternal anchorage in epitheliochorial and endotheliochorial placental types studied by histology and microvascular corrosion casts. *Trophoblast Res*, 12: 21-39.
55. MacDonald EM, Nelson PM, Byrne HJ, Tatum AL. (1948). *Tritrichomonas foetus* experimental infection in rabbits. *J Immunol*, 59: 295-300.
56. Maestrone G, Semar R. (1967). Experimental intravaginal infection with *Tritrichomonas foetus* in guinea pigs. *Chemotherapy*, 12: 137-145.
57. Martín Ocampos G, Fuentealba N, Sguaza GH, Jones LR, Cigliano MM, Barbeito CG, Galossi CM. (2009b). Genomic and phylogenetic analysis of argentinian equid Herpesvirus 1 strains. *Virus Gen*, 38: 113-117.
58. Martín Ocampos GP, Barbeito CG, Eöry ML, Simioli G, Fuentealba NA, Cid de la Paz V, Gimeno EJ, Galosi CM. (2009^a). Evaluation of pathogenicity of several argentine equine herpesvirus-1 strain using an experimental model. XIV ENAPAVE Encontro Nacional de Patologia Veterinaria. Aguas de Lindoia. Brasil. 12 al 16 de Octubre de 2009. Resumen 497.
59. Mayr E. (2006). Qué es la biología. Ed. Katz. Buenos Aires. Argentina.
60. McMillan D. (2007). Fish Histology. Female Reproductive Systems. Springer. Canada.
61. Mess A. (2003). Evolutionary transformations of chorioallantoic placental characters in rodentia with special reference to hystricognath species. *J Exp Zool Part B* 2003, 299: 78-98.

62. Miglino M, Pereira F, Visintin JA, Garcia J, Meirelles F, Rumpf  R, Ambrosio C, Papa P, Santos T, Carvalho A, Leiser R, Carter AM. (2007). Placentation in cloned cattle: Structure and microvascular architecture. *Theriogenology*, 68: 604-617.
63. Miglino MA, Carter AM, dos Santos Ferraz RH, Fernandes Machado MR. (2002). Placentation in the capybara (*Hydrochaerus hydrochaeris*), agouti (*Dasyprocta aguti*) and paca (*Agouti paca*). *Placenta*, 23: 416-428.
64. Moffett A and Loke C. (2006). Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat Rev Immunol*, 6: 584-594.
65. Monteavaro C, Soto P, Gimeno E, Echevarría M, Catena M, Portiansky E, Barbeito C. (2008). Histology and lectin binding patterns in mice infected with *Tritrichomonas foetus*. *J Comp Pathol*, 138: 40-45.
66. Monteavaro CE, Aguirre JI, Soto P, Echevarría HM, Catena MC, Portiansky EL and Gimeno EJ. (2007). Interaction of *Tritrichomonas foetus* with the reproductive tract of experimentally infected female BALB/c mice: ultrastructural evaluation. *Vet J*, 173: 204-208.
67. Nowotny N, Burtscher H, Burki F. (1987). Neurophatogenicity for suckling mice of equine herpesvirus 1 from the Lipizzan outbreak 1983 and of selected other EHV-1 strains. *Zentralbl Veterinarmed B*, 34: 441-448.
68. Parsonsom IM, Clark BL, Dufty JH. (1976). Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. *J Com Path*, 86: 59-66.
69. Patel JR, Edington N. (1983). The pathogenicity in mice of respiratory, abortion and paresis isolates of equine herpesvirus-1. *Vet Microbiol*, 8: 301-305.
70. Patel JR, Edington N, Mumford JA. (1982). Variation on cellular tropism between isolates of equine herpesvirus 1 in foals. *Arch Virol*, 74: 41-51.
71. Plaul SE, Andr s Laube PF, Barbeito CG. (2009). Fisiolog a reproductiva de los peces en: Gobello C, Manual de Fisiolog a reproductiva veterinaria. Ed UNLP. La Plata. Buenos Aires. Argentina. pp. 99-109.
72. Quinn HE, Ellis JT, Smith NC. (2003). Neospora caninum: a cause if immune-mediated failure of pregnancy?. *Trends Parasitol*, 18: 391-394.
73. Rhyan JC, Blanchard PC, Kvasnicka WG, Hall MR, Hanks D. (1995a). Tissue-invasive *Tritrichomonas foetus* in four aborted bovine fetuses. *J Vet Diagn Invest*, 7: 409-12.

74. Rhyan JC, Wilson KL, Burgess DE, Stackhouse LL, Quinn WJ. (1995b). Immunohistochemical detection of *Tritrichomonas foetus* in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of bovine placenta and fetal lung. *J Vet Diagn Invest*, 7: 98-101.
75. Rhyan JC, Stackhouse LL, Quinn WJ. (1988). Fetal and placental lesions in bovine abortion due to *Tritrichomonas foetus*. *Vet Pathol*, 25: 350-355.
76. Rossant J, Cross JC. (2001). Placental development: lessons from mouse mutants. *Nat Rev Genet*, 2: 538–548.
77. Saito S. (2000). Cytokine network at the feto maternal interface. *J Reprod Immunol*, 47: 87-103.
78. Schindler J. (2003). Scavenger receptors facilitate protein transport in the trophoblast placenta of the goodeid fish, *Ameiobela splendens* (Teleostei: Atheriniformes). *J Exp Zool*, 299A: 197-212.
79. Schlafer DH, Fisher PJ, Davies CJ. (2000). The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease. *Anim Repr Sci*, 60-61: 145-160.
80. Scott JC, Dutta SK, Myrup AC. (1983). In vivo harbouring of equine herpesvirus-1 in leukocyte populations and sub populations and their quantitation from experimentally infected ponies. *Am J Vet Res*, 44: 1344-1348.
81. Singh BN, Lucas JJ, Beach DH, Shin ST and Gilbert RO. (1999). Adhesion of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. *Infect Immun*, 67: 3847-3854.
82. Skov P, Sorensen TF, Ramlov H, Steffensen JF. (2007). Vascular arrangement and ultrastructure of the european Eelpout *zoarces viviparus* ovary: implications for maternal–embryonic exchange. *Anat Rec*, 290: 1500-1507.
83. Slater JD, Borchers K, Thackery AM, Field H. (1994). The trigeminal ganglion is a location for equine herpesvirus-1 (EHV-1) in latency and reactivation in the horse. *J Gen Virol*, 75: 2007-2016.
84. Slauson DO and Cooper BJ. (1990). Mechanisms of disease. Second Edition. Williams and Wilkins. Baltimore. USA.
85. Smith KC, Mumford JA, Whitwell KE. (1999). A comparison between the pathogenicity of EHV-1 isolates of high and low abortigenic potential in the natural host and in the mouse model.»Proc. 8th. int. Conf. equine inf. Dis. Eds: U. Wernery, J.F. Wade, J.A. Mumford and O-R. Kaaden, R&W Publications (Newmarket) pp. 581-582.

86. Soto P, Echevarria H, Monteavaro C and Catena M. (2005). Experimentally induced intravaginal *Tritrichomonas foetus* in a mouse model. *Braz J Vet Res*, 25:225-230.
87. St. Claire MC, Riley LK, Franklin CL, Besch-Williford CL, Hook RR. (1994). Experimentally induced intravaginal *Tritrichomonas foetus* infection in the estrogenized mouse. *Lab Anim Sci*, 44: 5430-435.
88. Stewart JR, Thompson MB. (2000). Evolution of placentation among squamate reptiles: recent research and future directions. *Comp Bioch Physiol Part A*, 127: 411-431.
89. Stokes A, Alber DG, Greensill J, Amellal B, Carvalho R, Taylor RA, Doel TR, Killington RA, Halliburton IW, Meredith DM. (1996). The expression of the proteins of equine herpesvirus 1 which shares homology with herpes simplex virus 1 glycoproteins H and L. *Virus Res*, 40: 91-107.
90. Terness P, Kallikourdis M, Betz AG, Rabinovich GA, Saito S, Clark DA. (2007). Tolerance signaling molecules and Pregnancy: IDO, Galectins, and the renaissance of regulatory T cells. *Am J Reprod Immunol*, 58: 238-254.
91. Thomford JW, Talbot JA, Ikeda JS and Corbeil LB. (1996). Characterization of extracellular proteinases of *Tritrichomonas foetus*. *J Parasitol*, 82: 112-117.
92. Van Andel RA, Franklin CL, St. Claire MC, Riley LK, Besch-Williford CL, Hook RR. (1996). Lesions of experimental genital *Tritrichomonas foetus* infections in estrogenized BALB/c mice. *Vet Pathol*, 33: 407-411.
93. Vogel P. (2005). The current molecular phylogeny of eutherian mammals. Challenges previous interpretations of placental evolution. *Placenta*, 26:591-596.
94. Wegmann TG, Hui Lin LG and Mosmann TR. (1993). Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a T H2 phenomenon? *Immunol Today*, 14: 353-356.
95. Wilks CR, Coggins L. (1977). Protective, immunity in equine herpesvirus type-1 infection of hamsters. *Cornell Veterinary*, 67: 385-403.
96. Wooding FBP, Flint APF. (1994). Placentation. En: Lamming GE, ed. Marshall's Physiology of reproduction, Part I. Chapman and Hall London, pp. 233-460.
97. Wooding P, Burton G. (2008). Comparative placentation structures, functions and evolution. Springer. Germany.
98. Woudwyk M, Monteavaro C, Soto P, Gimeno E, Zenclussen A, Barbeito C. (2010). Estudio de la respuesta inmune uterina en un modelo de tritricomonosis

bovina en ratonas BALB/c preñadas. Séptima Reunión Argentina de Patología Veterinaria. Buenos Aires. 6-8 de Julio 2010. PE74.

99. Zeh D, Zeh J. (2000). Reproductive mode and speciation. The viviparity-driven conflict .

100. Zenclussen AC, Schumacher A, Zenclussen ML, Wafula P and Volk H. (2007). Immunology of pregnancy: cellular mechanisms allowing fetal survival within the maternal uterus. *Expert Rev Mol Med.* 9 (10): 1-14.