

## Análisis inmunohistoquímico vascular placentario en un sistema de subalimentación caprina

Placental vascular immunohistochemical analysis in a goat undernutrition system

DOI: <https://doi.org/10.63207/ai.v8i15.159>

Keisy Pabla Gómez<sup>1,2,3</sup>, Mariana Rita Fiorimanti<sup>1,2</sup>, Andrea Lorena Cristofolini<sup>1,2, 3</sup>, María Paula Turiello<sup>4</sup>, Claudio Gustavo Barbeito<sup>3,5</sup>, Cecilia Inés Merkis<sup>1,2</sup>

1. Área de Microscopía Electrónica, Departamento de Patología Animal. Universidad Nacional de Río Cuarto.
2. INCIVET UNRC/ CONICET.
3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. CONICET. Argentina.
4. Cátedra de Nutrición Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto.
5. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata.

**Resumen.** En el desarrollo vascular placentario, el equilibrio metabólico resulta fundamental para abastecer las necesidades fetales y asegurar el éxito de la preñez. Gracias a la presencia de factores angiogénicos, antiangiogénicos y filamentos intermedios es posible llevar a cabo el desarrollo de una extensa red vascular. Sin embargo, la nutrición y consecuente tasa de crecimiento de las hembras en el período prepupal pueden incidir sobre la eficiencia productiva y reproductiva. El objetivo del trabajo fue identificar mediante la técnica inmunohistoquímica la presencia de angiopoyetina-1(ANG-1), trombospondina-1 (TSP-1) desmina y vimentina en muestras placentarias caprinas provenientes de un modelo de diferenciación nutricional en la etapa prepupal. Se utilizaron 10 cabrillonas prepúberes, asignadas a dos grupos, grupo control, animales con consumo de materia seca a voluntad y grupo restringido, animales sometidos a una restricción del 30 % del consumo potencial logrado en las hembras del grupo control. Se realizó el servicio por monta natural, y las placentas fueron recolectadas *post* parición. Se tomaron muestras cotiledonarias para su posterior procesamiento en el laboratorio, se procedió con la técnica histológica convencional, para el posterior empleo de las muestras en la técnica inmunohistoquímica. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el software InfoStat usando un diseño completamente al azar. Se determinó el efecto de la restricción alimentaria sobre la remodelación placentaria, y se pudo establecer que ANG-1, TSP-1, desmina y vimentina presentan mayor inmunorreactividad ante escenarios de estrés nutricional a fines de desarrollar una adecuada red vascular mediante la conformación de vasos de mayor tamaño que permita abastecer los requerimientos metabólicos fetales.

**Palabras clave:** placenta, cabras, gestación, desarrollo vascular.

Artículo recibido: . 2 de abril de 2025. Artículo aceptado: 01 de julio de 2025

\*Autora para correspondencia: Keisy Pabla Gómez, Ruta Nacional 36 - Km. 601 - Código Postal X5804BYA, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 2302585544 - kgomez@ayv.unrc.edu.ar

**Financiamiento:** Financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto. SeCyT UNRC. Resolución 0449.

**Abstract.** In placental vascular development, metabolic balance is essential to meet fetal needs and ensure successful pregnancy. Thanks to the presence of angiogenic and antiangiogenic factors and intermediate filaments, it is possible to develop an extensive vascular network. However, nutrition and consequent growth rate of females in the prepubertal period can affect productive and reproductive efficiency. The objective of the work was to identify, using the immunohistochemical technique, the presence of angiopoietin-1 (ANG-1), thrombospondin-1 (TSP-1), desmin and vimentin in caprine placental samples from a nutritional differentiation model in the prepubertal stage. Ten prepubertal goats were used, assigned to two groups: control group, animals with ad libitum dry matter intake, and restricted group, animals subjected to a 30% restriction of the potential intake achieved by females in the control group. Service was carried out by natural mating, and the placentas were collected after delivery. Cotyledonary samples were taken for further processing in the laboratory. The conventional histological technique was used for the subsequent use of the samples in the immunohistochemical technique. The results obtained were statistically analyzed using InfoStat software using a completely randomized design. The effect of food restriction on placental remodeling was determined, and it was established that ANG-1, TSP-1, desmin and vimentin present greater immunoreactivity in nutritional stress scenarios in order to develop an adequate vascular network by forming larger vessels that allow supplying fetal metabolic requirements.

**Keywords:** placenta, goats, gestation, vascular development.

## INTRODUCCIÓN

La placenta es un órgano temporal y dinámico, con importantes características inmunológicas que facilitan el desarrollo y supervivencia embrionaria y fetal (Wooding y Burton, 2008). Las interacciones entre células, componentes de matriz extracelular y moléculas bioactivas regulan la generación de dicho órgano constituyendo así la base de su ingeniería tisular.

En la interfase materno- fetal, la formación y desarrollo del lecho vascular resulta esencial para el suministro eficiente de nutrientes y oxígeno de la madre al feto y mantener un crecimiento fetal normal (Wang *et al.*, 2023). La angiogénesis, es un proceso complejo y dinámico regulado por moléculas que desempeñan un papel crucial en el origen, desarrollo y extensión de la red vascular placentaria (Liu *et al.*, 2023).

El adecuado equilibrio vascular, es posible gracias a la presencia de factores angiogénicos, antiangiogénicos y filamentos intermedios (Fiorimanti *et al.*, 2018). Entre los factores que promueven el desarrollo vascular, podemos citar a angiopoyetina 1 (ANG-1) (Kappou *et al.*, 2015). Este factor ha sido involucrado en la formación de la vasculatura fetoplacentaria en diversas especies mamíferas (Kappou *et al.*, 2015). La vía ANG-1 junto a su receptor Tie-2 juega un papel importante en la regulación de la estabilidad vascular, en condiciones fisiológicas y patológicas (Joussen *et al.*, 2021).

Por otro lado, en la gestación normal, existe un estado de equilibrio, señalándose así, la importancia de los factores antiangiogénicos en el establecimiento del balance homeostático. Uno de los principales factores antiangiogénicos es la trombospondina 1 (TSP-1). Dicho factor, bloquea la cascada angiogénica a través de efectos directos sobre la migración, proliferación, supervivencia y apoptosis de las células endoteliales y al antagonizar la actividad del factor de crecimiento endotelio vascular VEGF (Lawler y Lawler, 2012). Se trata de un inhibidor natural de la angiogénesis, que juega un papel fundamental en el mantenimiento del estado quiescente de la vasculatura (Greenaway *et al.*, 2007; Rommel *et al.*, 2019). TSP-1 es una glicoproteína que interacciona con CD36, un receptor de transmembrana acoplado a tirosín quinasas intracelulares. La unión de TSP-1 a CD36 activa una ruta de señalización que conduce a la activación de diversas caspasas para inducir la apoptosis en las células endoteliales (Coniglio *et al.*, 2016; Sanchis 2017; Rommel *et al.*, 2019).

Además, como sostén de la neovascularización es necesaria la acción de un conjunto de macromoléculas que constituyen la arquitectura placentaria. Los filamentos intermedios, como desmina y vimentina, juegan un rol fundamental en la implantación y el desarrollo placentario de diferentes especies animales (Oliveira *et al.*, 2000; Korgun *et al.*, 2007; Benzoni *et*

*al.*, 2020). La vimentina, propia de células no musculares de origen mesenquimático y algunos epitelios, se distribuye de forma similar a la citoqueratina, conformando el citoesqueleto de algunas células. Por su parte, la desmina es exclusiva del tejido muscular, principalmente en el músculo liso donde forma haces finos unidos a los cuerpos densos. Participa en la transmisión del estímulo de las proteínas contráctiles, y garantiza la distribución uniforme de las fuerzas tensoras. Por otro lado, en las células musculares embrionarias, este filamento está asociado a la vimentina (Rodríguez *et al.*, 2004; Benzoni, 2020).

La nutrición y consecuente tasa de crecimiento de las hembras en el período prepuberal, puberal y post puberal, como así también el estado metabólico logrado, pueden incidir sobre la eficiencia productiva y reproductiva en caprinos (Koluman y Silanikove, 2018; Fiorimanti *et al.*, 2021; Fiorimanti *et al.*, 2023). Por lo tanto, bajo un sistema de subalimentación es de vital importancia determinar si la restricción energética en la hembra prepuber afecta la inmunosupresión de los principales factores implicados en el normal desarrollo vascular placentario-fetal cuando ésta inicie una gestación a futuro (Cristofolini *et al.*, 2012; Turiello *et al.*, 2019).

El objetivo de este trabajo fue identificar mediante la técnica inmunohistoquímica la presencia de ANG-1, TSP-1, desmina y vimentina en muestras placentarias caprinas provenientes de un modelo de subalimentación nutricional en la etapa prepuberal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

**Cabras.** Se utilizaron 10 cabrillonas prepúberes nacidas en primavera, de 4 meses de edad y de aproximadamente 12 kg de peso, de la zona de Río Cuarto, Córdoba, Argentina, 33° 08' S, 64° 20' O, bajo condición de fotoperíodo natural (Cristofolini *et al.*, 2012).

### Modelo de restricción alimentaria

Los animales fueron asignados según peso vivo, a dos grupos de similar peso promedio, que recibieron diferentes tratamientos: C: grupo con-

trol, animales con consumo de materia seca a voluntad y R: grupo restringido, animales sometidos a una restricción del 30 % del consumo potencial logrado en las hembras del grupo C. La dieta estuvo compuesta por una mezcla 70:30 de heno de alfalfa picado y grano de maíz molido, logrando una concentración energética de 2,4 Mcal/kg MS. El alimento se ofreció en jaulas individuales durante 8 h diarias, de 8 a.m. a 4 p.m. a fin de controlar el consumo diario, permaneciendo los animales libres el resto del tiempo durante el cual tuvieron libre acceso a la provisión de agua y podían desarrollar interacción social y comportamiento reproductivo. Los animales del grupo R fueron mantenidos en restricción por el término de 250 días, luego del cual fueron alimentados a voluntad hasta la 2<sup>o</sup> estación reproductiva. Luego de comprobar la ciclicidad de todas las hembras se realizó el servicio por monta natural. La totalidad de las hembras fueron preñadas y las placentas fueron recolectadas inmediatamente después de la parición.

### Obtención de tractos reproductivos

Los tractos reproductivos se lavaron con solución salina de Hank's (SSH) (Gibco, USA) contenido 10.000 U/ml de penicilina G sódica, 10 mg/ml de sulfato de estreptomina y 2,5 µg/ml de fungizona, manteniéndolos a 4 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

### Técnica de histología convencional para microscopía óptica

Las muestras de placentomas se fijaron en formol tamponado al 10 % por 24 a 48 h, y se procedió con la técnica histológica convencional. Los tejidos fueron cortados en un micrótomos IEC Minetome en delgadas láminas de 5 a 6 µm. los cortes se destinaron para la inmunodetección de las siguientes moléculas: desmina, vimentina, TSP-1, ANG-1.

### Técnica inmunohistoquímica

Para la determinación de desmina, vimentina, TSP-1 y ANG-1 se utilizaron anticuerpos específicos comerciales para cada molécula analizada. Las muestras fueron incubadas con el primer anticuerpo ANG-1 (H-123): sc-9044; dilución de trabajo 1/100, TSP-1 (SC- 59887) dilución

de trabajo 1/100 (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC); desmina (D33) y vimentina (V9) (Ready use Cell Marque, USA). Como anticuerpo secundario se utilizó el equipo comercial Polivalent Biotinylated Link (YELLOW –pool de segundos anticuerpos- biotinilados anti- rabbit anti- mouse, HiDef Detection™ HRP Polymer System Cell Marque, USA). Las proteínas inmunorreactivas se visualizaron mediante el cromógeno diaminobencidina (DAB Cell Marque, USA) y los tejidos fueron contrastados con hematoxilina de Mayer (Dako, USA), se deshidrataron y montaron con Entellan (Merck) para ser observados con un microscopio Axiophot (Zeiss, Alemania), la adquisición de imágenes se realizó a través de la cámara digital Power-shot G6, 7,1 megapixels (Canon INC, Japón), adosada al microscopio.

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2020), mediante el uso de un ANOVA con un test *a posteriori* LSD-Fisher para evaluar la dependencia de las moléculas analizadas con respecto al tratamiento, usando un diseño completamente al azar. Los resultados se consideraron significativos cuando el valor de  $p \leq 0,05$ . Los resultados obtenidos en las técnicas inmunohistoquímicas fueron expresados en forma semicuantitativa, de acuerdo con la intensidad de marcación determinando que: (-): negativo, (+): débil, (++) : abundante, (+++) : cuantioso. La distribución de intensidad de inmunomarcación de las moléculas se realizó a través del valor High Score, definido como  $HS: \sum Pi (i + 1)$ , donde “i” es la intensidad de marcación y, “Pi” es el porcentaje de células para cada marcación (Fiorimanti *et al.*, 2018).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bajo un sistema de restricción nutricional la hembra caprina es capaz de adaptarse y llevar a cabo sus funciones reproductivas - productivas, mediante la acción coordinada e integrada de diferentes factores implicados en la remodelación tisular y vascular, además de la expresión de filamentos intermedios (Liu *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023). En estudios previos publi-

cados por nuestro grupo de investigación, se ha determinado el efecto de la restricción alimentaria sobre la remodelación placentaria (Cristofolini *et al.*, 2012; Turiello *et al.*, 2019).

En el presente estudio, la inmunomarcación para ANG-1, se expresó positivamente en placentas de cabras restringidas nutricionalmente. En cuanto al epitelio trofoblástico fetal, la inmunomarcación fue abundante en el citoplasma de células mono y binucleadas, siendo cuantiosa en aquellas células que conforman el ápice de las vellosidades fetales. Los vasos sanguíneos próximos al epitelio presentaron inmunomarcación a nivel del endotelio vascular, por otro lado, la inmunodetección fue positiva a nivel del tejido conectivo fetal. Con respecto a placentas de hembras control, se observó inmunomarcación para ANG-1 a nivel del epitelio trofoblástico fetal y tejido conectivo, distribuyéndose zonalmente a nivel del citoplasma celular, por su parte, el endotelio vascular, presentó inmunomarcación negativa (Figura 1 A-B). Los valores de High Score para ANG-1 se manifestaron elevados en placentas restringidas con respecto a placentas controles, diferencia que fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) (Figura 1 C).

El sistema ANG-1 y su receptor Tie-2 ha sido detectado en el estroma perivascular de los vasos sanguíneos en diferentes estadios gestacionales de la placenta del cerdo y también en humanos (Fiorimanti *et al.*, 2018). Este sistema, juega un papel importante en la regulación de la estabilidad vascular, en condiciones fisiológicas y patológicas. En condiciones normales la ANG-1 se une al receptor Tie-2 y lo fosforila, hecho que promueve la supervivencia celular y la estabilidad vascular (Joussen *et al.*, 2021). Dicha vía desempeña un rol primordial en el endotelio vascular, ya que intervienen en la regulación de la supervivencia celular, la maduración; promoviendo su estabilidad mediante el reclutamiento y la interacción con las células periendotheliales. Además, potencia la función de la barrera endotelial favoreciendo las adhesiones celulares. Durante el desarrollo vascular, este sistema controla el diámetro de los vasos y en el post-desarrollo, actúa como un inhibidor de la permeabilidad vascular y de la apoptosis endotelial, favoreciendo de este modo, la supervivencia vascular (Kappou *et al.*, 2015; Fiorimanti *et al.*, 2018; Joussen *et al.*, 2021). En este estu-

dio se ha determinado que existe una actividad exacerbada de este sistema proangiogénico en placentas de hembras sometidas a restricción nutricional, con mayor incidencia de efecto en el epitelio trofoblástico y endotelios vasculares próximos a la lámina basal del epitelio.

Por su parte, en placentas control, TSP-1 se expresó débilmente en el mesénquima fetal, mientras que el epitelio trofoblástico presentó zonas con marcación débil y moderada a nivel del citoplasma de las células epiteliales. Por otro lado, las placentas de hembras restringidas expresaron débil inmunomarcación a lo largo del mesénquima fetal, mientras que el epitelio trofoblástico presentó zonas con inmunomarcación moderada, los vasos sanguíneos de estas placentas demostraron inmunomarcación débil en algunas células endoteliales, tanto de pequeños como grandes vasos sanguíneos (Figura 2 A-B). El análisis estadístico a partir de los valores de High Score permitió observar que las placentas de hembras restringidas expresan mayor intensidad de inmunomarcación para TSP-1 con respecto a los controles con diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 2 C).

Rommel *et al.*, (2019) postulan que, durante la gestación normal, existe un estado de equilibrio entre los procesos angiogénicos y antiangiogénicos. En el presente estudio se señala la importancia de dicho factor antiangiogénico en el establecimiento de ese balance homeostático durante el proceso de vascularización. En trabajos previos se ha determinado un aumento significativo del índice apoptótico, en placentas a término provenientes de madres restringidas durante el período prepuberal (Cristofolini *et al.*, 2012); así como también, que la inducción de la remodelación placentaria se origina través de la vía de señalización extrínseca de apoptosis (Turiello *et al.*, 2019). De manera tal, que el aumento de la proteína TPS-1 en placentas restringidas podría estar relacionado a su acción directa sobre la apoptosis en zona perivasculares, induciendo una remodelación del lecho vascular placentario (Sanchis *et al.*, 2017; Fiorimanti *et al.*, 2018).

El efecto inhibitorio de TPS-1 sobre VEGF, para la regulación antiangiogénica, ha sido postulada por varios autores (Greenaway *et al.*, 2007; Lawler y Lawler, 2012; Rommel *et al.*, 2019).

Coniglio *et al.*, 2016 en estudios preliminares en placentas de cabras luego de una restricción nutricional determinaron un aumento de las células que expresan VEGF en relación al tamaño de los vasos sanguíneos. La mayor inmunolocalización de TPS-1 en placentas restringidas, determinada en el presente estudio, podría estar asociada a su efecto directo sobre VEGF, reduciendo la migración endotelial y la brotación vascular, permitiendo así la generación de vasos sanguíneos de mayor tamaño.

Por otro lado, en las placentas de hembras control la inmunorreactividad expresada a desmina fue débil a nivel de las células que forman parte del tejido conectivo fetal y en la capa muscular que conforma arterias y arteriolas. En placentas restringidas se observaron escasas diferencias con respecto a los controles, entre las que se menciona la expresión de moderada inmunomarcación en la capa muscular de las arterias y arteriolas (Figura 3 A-B). El análisis estadístico a partir de los valores de High Score permitió determinar que existe un aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) en la distribución de la intensidad de inmunorreactividad de desmina en placentas restringidas respecto a los controles (Figura 3 C).

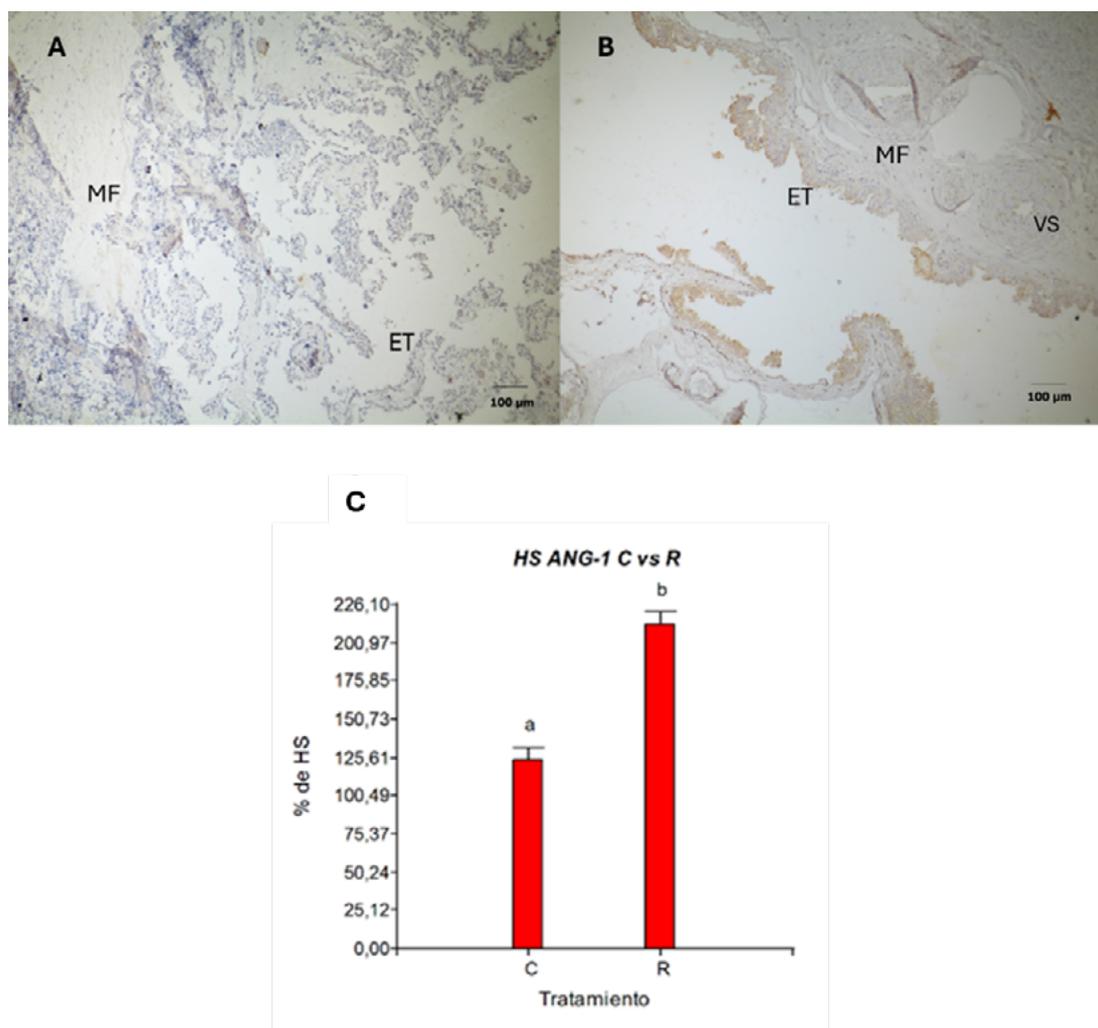
La técnica inmunohistoquímica para vimentina permitió determinar que las muestras placentarias de hembras control revelaron débil inmunorreactividad a lo largo de las células que constituyen el mesénquima fetal. Por su parte, las hembras que fueron restringidas nutricionalmente expresaron en sus placentas mayor extensión de inmunorreacción para vimentina. Particularmente, la misma fue débil a lo largo mesénquima fetal y fue posible apreciar inmunomarcación a nivel de los vasos sanguíneos, y en las células adyacentes a dichos vasos (Figura 4 A-B). El análisis estadístico a partir de los valores de High Score permitió determinar que placentas de hembras restringidas expresan un aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) de inmunorreactividad con respecto a placentas de hembras control para vimentina (Figura 4 C).

Durante la gestación, la expresión y acción de filamentos intermedios como desmina y vimentina garantiza el medio óptimo para llevar a cabo una adecuada red vascular (Benzoni *et al.*, 2020).

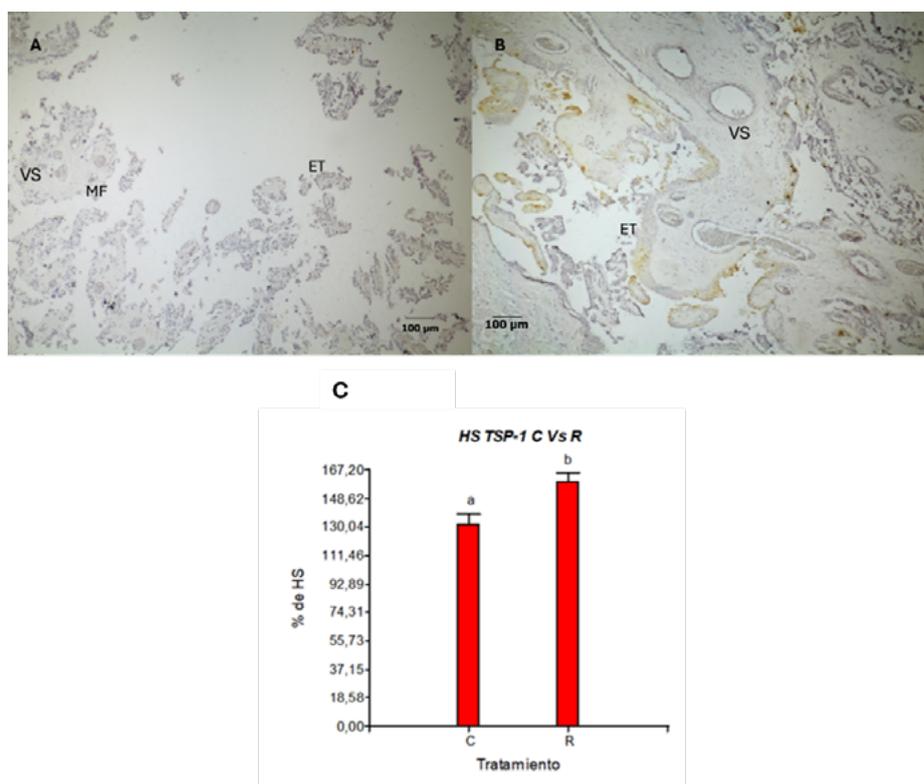
La evaluación de desmina y vimentina permitió determinar un incremento en la inmunomarcación, particularmente en mesénquima fetal y en la capa muscular de arteriolas y arterias. Las placentas de madres restringidas nutricionalmente presentaron mayor inmunoexpresión de desmina y vimentina con respecto a placentas de hembras controles.

Los resultados del presente trabajo indican que el aumento de desmina y vimentina resultaría necesario para otorgar flexibilidad y movilidad al citoesqueleto de aquellas células que forman

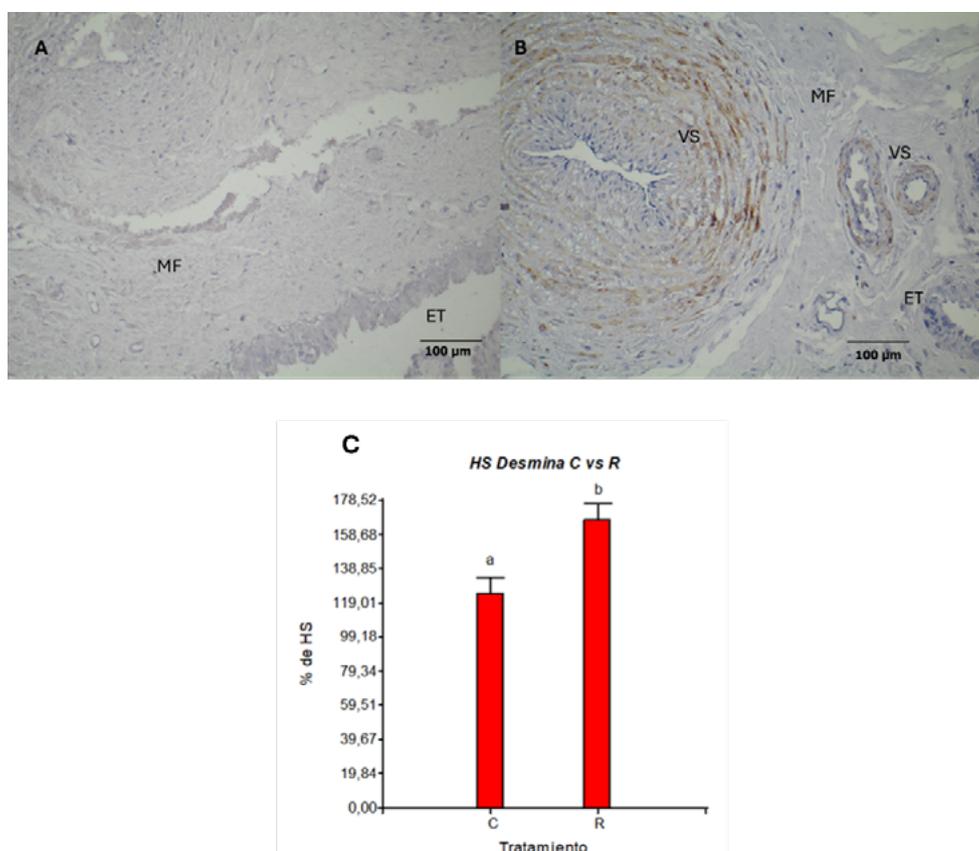
parte de la estructura placentaria en desarrollo (Rodríguez *et al.*, 2004). De la misma manera, ante condiciones adversas como un sistema de subalimentación, la mayor inmunorreactividad para desmina y vimentina detectada, podría atribuirse a una adaptación placentaria tendiente a mantener la organización celular y el contacto célula a célula favoreciendo el traslado de macromoléculas intracelulares intervinientes en procesos vitales, tales como el desarrollo de vasos sanguíneos (Oliveira *et al.*, 2000; Korgun *et al.*, 2007).



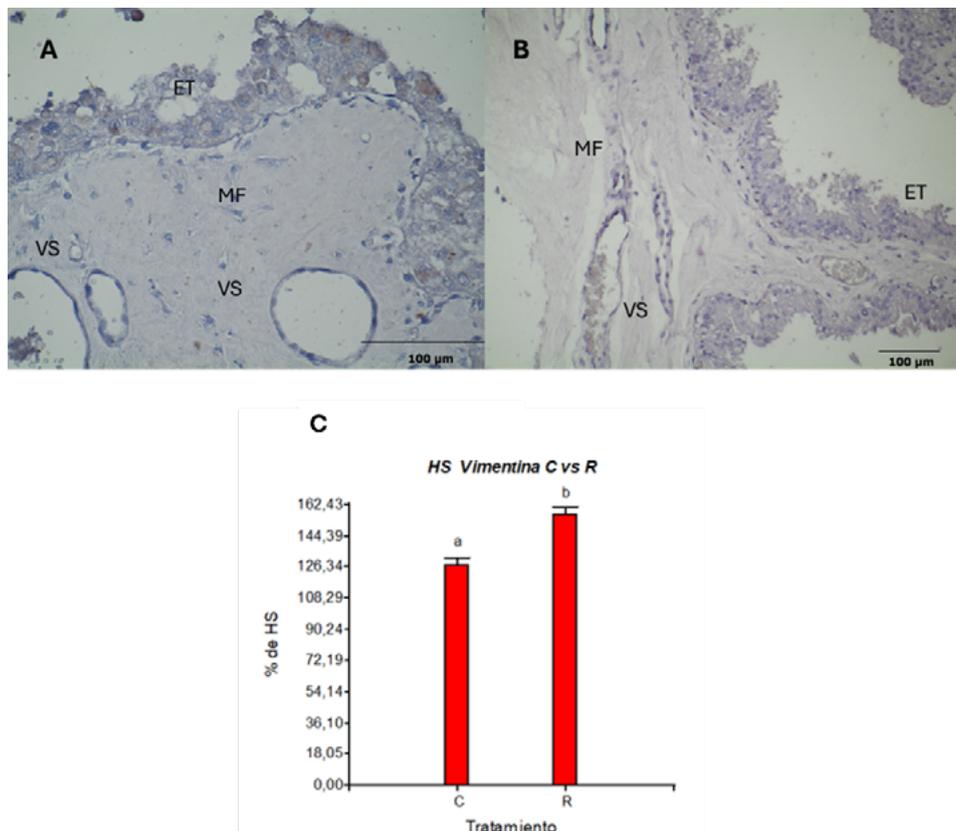
**Figura 1.** Inmunolocalización de ANG-1 en placentas caprinas a lo largo de la gestación. **A:** control 150 días; **B:** restringida 150 días. **C:** Análisis estadístico de la distribución de inmunomarcación en muestras placentarias caprinas para ANG-1 (control *versus* restringida). **MF:** Mesénquima Fetal; **ET:** Epitelio Trofoblástico; **VS:** Vaso Sanguíneo. Escala: 100  $\mu$ m.



**Figura 2-** inmunolocalización de TSP-1 en placentas caprinas a lo largo de la gestación. **A:** control 150 días; **B:** restringida 150 días. **C:** Análisis estadístico de la distribución de inmunomarcación en muestras placentarias caprinas para TSP-1 (control *versus* restringida). **MF:** Mesénquima Fetal; **ET:** Epitelio Trofoblástico; **VS:** Vaso Sanguíneo. Escala: 100  $\mu$ m.



**Figura 3-** inmunolocalización de desmina en placentas caprinas a lo largo de la gestación. **A:** control 150 días; **B:** restringida 150 días. **C:** Análisis estadístico de la distribución de inmunomarcación en muestras placentarias caprinas para desmina (control *versus* restringida). **MF:** Mesénquima Fetal; **ET:** Epitelio Trofoblástico; **VS:** Vaso Sanguíneo. Escala: 100  $\mu$ m.



**Figura 4-** inmunolocalización de vimentina en placentas caprinas a lo largo de la gestación. **A:** control 150 días; **B:** restringida 150 días. **C:** Análisis estadístico de la distribución de inmunomarcación en muestras placentarias caprinas para vimentina (control *versus* restringida). **MF:** Mesénquima Fetal; **ET:** Epitelio Trofoblastico; **VS:** Vaso Sanguineo. Escala: 100  $\mu$ m.

## CONCLUSIONES

En placentas de cabras sometidas a restricción nutricional durante la etapa prepuberal, existe un desarrollo coordinado de la red vascular que permite garantizar el intercambio de nutrientes de la madre al feto para abastecer los requerimientos fetales y asegurar así el éxito de la preñez.

La vía angiogénica desencadenada por la acción de ANG-1 presenta mayor actividad ante escenario de estrés nutricional a fines de desarrollar una adecuada red vascular que permita abastecer los requerimientos metabólicos fetales.

El factor anti angiogénico TSP-1 se expresa en mayor medida bajo condiciones nutricionales adversas desencadenando la expresión de vasos sanguíneos de mayor tamaño, lo cual permite un adecuado desarrollo vascular placentario compensatorio en hembras restringidas.

Frente a situaciones nutricionales adversas el aumento en la expresión de desmina y vimentina es necesario en la funcionalidad del citoesqueleto celular para garantizar una mejor elasticidad placentaria.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benzoni, A., Cristofolini, A.L., Fiorimanti, M. R., Turiello, P., Díaz, T., Merkis, C.I. (2020). Inmunolocalización de desmina y vimentina en placentas caprinas sometidas a un modelo de restricción alimentaria. Argentina. V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas, V Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal, *Morfovirtual*. La Habana, Cuba.
- Coniglio, M.V., Merkis, C.I., Diaz, T., Romani, M.C., Turiello, M.P., Bozzo, A.A., Cots, D.S., Rolando, A.N. (2016). Efectos de la restricción alimentaria sobre el desarrollo de los vasos sanguíneos placentarios en cabras. *Revista InVet*. 18 (1): 67-76.
- Cristofolini, A.L, Turiello, M.P, Sanchis, E.G, Cufre, G., Merkis, C.I. (2012). Effect of feed restriction and realimentation with monensin supplementation on placental structure and ultrastructure in anglo-nubian goats *ISRN Veterinary Science*. 2012; 490530, 1-10.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini M., González, L., Tablada M., Robledo, C. (2020). *InfoStat Version 2021*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

- Fiorimanti, M.R. (2018). Incidencia de los factores angiogénicos y antiangiogénicos en el desarrollo vascular placentario en porcinos. Tesis de doctorado en ciencia tecnología e innovación agropecuaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto. Córdoba, Argentina.
- Fiorimanti, M.R, Cristofolini, A.L, Benzoni, A., Bozzo, A., Díaz, T., Flores, C., Audap Soubie, R., Coniglio, V., Cavaglieri, L., Barbeito, C. G, Merkis, C. I. (2021). Eficiencia placentaria en cabras restringidas nutricionalmente durante la gestación. *Revista Ab Intus*. 7 (4): 35-42.
- Greenaway, J., Lawler, J., Moorehead, R., Bornstein, P., Lamarre, J., Petrik, J. (2007). Thrombospondin-1 inhibits VEGF levels in the ovary directly by binding and internalization via the low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1). *J Cell Physiol*. 210 (3): 807-18.
- Joussen, A., Ricci, F., Paris, L., Korn, C., Quezada, C., Zarbin M. (2021). Angiopoietin/Tie2 signalling and its role in retinal and choroidal vascular diseases: a review of preclinical data. 35:1305–1316 <https://doi.org/10.1038/s41433-020-01377->.
- Kappou, D., Sifakis, S., Konstantinidou, A., Papanтониου, N., Spandidos, D. (2015). Role of the angiopoietin/Tie system in pregnancy (Review). *Experimental and therapeutic medicine* 9(4), 1091-1096.
- Koluman, N., Silanikove, N. (2018). The advantages of goats for future adaptation to Climate Change: A conceptual overview. *Small Ruminant Research*. 163: 34-38.
- Korgun, E., Cayli, S., Asar, M., Demir, R. (2007). Distribution of laminin, vimentin and desmin in the rat uterus during initial stages of implantation. *J Mol Histology*. 38(4): 253-60.
- Kurt, P., Fuente, J. (2014). Manejo reproductivo de la cabra Entorno Ganadero N° 37. *BM Editores*.
- Lawler, P.R., Lawler, J. (2012). Molecular Basis for the Regulation of Angiogenesis by Thrombospondin-1 and -2. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2: a006627. doi: 10.1101/cshperspect.a 006627.
- Liu, Z.L., Chen, H.H., Zheng, L.L., Sun, L.P, Shi, L. (2023). Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer. *Signal Transduct Target Ther*.11;8(1):198. doi: 10.1038/s41392-023-01460-1.
- Oliveira, S., Greca, C., Abrahamohn, P., Reis, M., Zorn, T. (2000). Organization of desmin-containing intermediate filaments during differentiation of mouse decidual cells. *Histochem Cell Biology*. 113: 319-327.
- Rodríguez, H., Ríos, A., Sarabia, L., Ossandón, E., Araya, J.C. (2004). Inmunohistoquímica de filamentos intermedios, tipo vimentina y desmina, y enzima enolasa en túbulos seminíferos seniles humanos. *Revista Internacional de Andrología*. 2 (1):9-14.
- Rommel, O., Lacunza, P., Avalos, J. (2019). Antiangiogenesis en la fisiopatología de la preeclampsia. *Revista Peru Investigacion Materna y Perinatal*; 8(4):48-53.
- Sanchis, E., Cristofolini, A., Fiorimanti, M., Barbeito, C., Merkis, C. (2017). Apoptosis and cell proliferation in porcine placental vascularization. *Animal Reproduction Science*, 184: 20-28.
- Turiello, M.P., Cristofolini, A.L, Fiorimanti, M.R, Diaz, T., Cavaglieri, L., Merkis, C. I. (2019). Effect of prepuberal nutrition on cellular apoptosis and proliferation in at term placenta of Anglo Nubian goat. *Reproduction in Domestic Animal*; 54: 560-570.
- Wang, P., Luo, N., Zhao, L., Zhao, Y. (2023). Vascular distribution and expression patterns of angiogenic factors in caruncle during the early stage of pregnancy in goats. *Capra hircus. Animals*.13-99.
- Wooding, F. y Burton, G. (2008). Comparative placentation: structure, functions and evolution. *Ed. Springer. Verlag*. Berlin Heidelberg.