

# PATOLOGÍA DE LA PLACENTA DE RATA INDUCIDA POR LA DEFICIENCIA DE ÁCIDOS GRASOS

Glocker, Teresita Mónica

1º Cátedra de Histología, Embriología y Genética. Instituto de Biología Celular.  
Facultad de Ciencias Médicas.

## Resumen

Los lípidos son componentes importantes de las células, tanto desde el punto de vista estructural como funcional. Además de intervenir en funciones de transporte, reconocimiento celular e inmunidad, los Ácidos Grasos Esenciales (AGE), son importantes para el mantenimiento funcional y estructural de los organismos animales. En nuestro laboratorio se demostró que ratas preñadas alimentadas con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales (DAGE) y otras con las mismas dietas pero suplementadas con 5% de aceite de maíz, (rico en ácido linoleico) mostraron alteraciones en el desarrollo placentario. En el presente trabajo, 57 ratas hembras de una cepa Wistar fueron alimentadas desde el destete con una de las siguientes dietas: 1: DAGE; 2: DAM (dieta DAGE más aceite de maíz, alta proporción de ácido linoléico); 3: DAS (dieta DAGE más aceite de soja, alta proporción de ácidos linoleico y  $\alpha$ -linoléico) y 4: DC (dieta comercial). Después de los 3 meses de edad los animales fueron preñados y se sacrificaron al 13 día de la gestación. Los cuernos uterinos fueron disecados y los sitios de implantación se fijaron en formol y se incluyeron en parafina. Las observaciones se realizaron sobre cortes coloreados con H/E, y se estudió la placenta corioalantoidea, el número de implantaciones y el de reabsorciones. La glándula metrial de ratas DAGE y DAM presentaron modificaciones estructurales en relación a las DC. Los hallazgos más notables fueron: Indiferenciación de las células granulares metriales y aumento de la cantidad de tejido conectivo. En las ratas DAS, en cambio, el aspecto de la glándula metrial era similar a lo observado en el grupo DC. En los grupos DAGE y DAM el laberinto estaba ensanchado, con septos vasculares pero en el grupo DAS eran similares al DC, delgados y vasculares. No se detectaron diferencias en el número de implantaciones y

reabsorciones. Los presentes resultados sugieren que el ácido  $\alpha$ -linoléico dietético es esencial para que la placenta de rata alcance su desarrollo normal.

**Palabras claves:** Placenta de rata, Glándula metrial, Laberinto, ácidos grasos, ácido  $\alpha$ -linoléico.

## Abstract

Lipids are important cell components, both from the structural and the functional point of view. Besides, they intervene in transporting functions, cell recognition and immunity. Essential Fatty Acids (EFA) are important for the functional and structural maintenance of animal organisms.

In our laboratory, it was demonstrated that one group of pregnant rats fed on an EFA deficient diet, and other group of rats fed on the same diet but with 5% of corn oil (rich in linoleic acid) showed alterations on the development of the metrial gland. In the present work, 57 female rats of a Wistar strain were fed since weaning with one of the following diets: EFAD: deficient in essential fatty acids, COD: EFAD + 5% corn oil (linoleic acid sufficient but  $\alpha$ -linoleic acid deficient); SAD: EFAD + 5% soy oil (both EFA sufficient) and CD: commercial diet. After 3 months the animals were sacrificed on the 13th day of gestation. Uterus horns were dissected and the implantation sites were fixed on formol and embedded in paraffin. The observations were carried out with H/E coloured cross-sections and the corioalantoic placenta, the sites of implantations and the sites of reabsorptions were studied. The metrial gland of DAGE and DAM rats presented structural modifications compared to DC rats. The most relevant findings were: indifferenciation of the granulated metrial gland cells and an increase in the amount of connective tissue.

In DAS rats, on the contrary, the aspect of the metrial gland was similar to the observed in the DC group. In the DAGE and the DAM groups Labyrinthum was enlarged with vascular septum group. Mean while DAS was similar to group DC (thin and vascular). Differences in the sites of implantations and reabsortions were not detected. The present results suggest that  $\alpha$ -linolenic acid is essential for the rat placenta to reach normal development.

**Key Words:** Rats placenta. Metrial gland. Labyrinthum. Fatty acids.  $\alpha$ -linoleic acid.

### Introducción

Los lípidos son componentes importantes de las células, tanto desde el punto de vista estructural como funcional. Así, por ejemplo, forman parte de las membranas celulares e intervienen en funciones de transporte, reconocimiento celular, inmunidad, mecanismo de coagulación y de control paracrino (hormonas locales). Los lípidos son la fuente de los ácidos grasos esenciales (AGE), los que además de cumplir un papel estructural son indispensables para la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos. Los AGE son importantes para el mantenimiento funcional y estructural de los organismos animales (1). La esencialidad de los miembros de la familia (n-6) y (n-3) varía entre las especies, ya sea por los requerimientos o por su habilidad para elongar o desaturar a los precursores.

Se ha demostrado que la deficiencia de AGE afectaría en diversos sistemas su normal desarrollo y función, ejemplos: SNC (2), retina, corteza occipital y en otros órganos (3).

Además se ha descrito que la deficiencia severa de ácidos grasos esenciales sumada a la restricción de dieta redujo significativamente el contenido de ácido linoleico y los derivados altamente insaturados del ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico, y aumentó significativamente el eicosatrienoico (20:3n9). (4).

También se ha demostrado, que la desnutrición materna o la deficiencia prolongada en ácidos grasos esenciales dañan la función reproductiva de la hembra (5); así como también una deficiencia prolongada en AGE impuesta a la madre, disminuye el peso del feto, de los órganos fetales y de la placenta (6).

Si bien se ha comunicado que la cantidad de lípidos en la placenta es pequeña; to-

dos ellos cumplirían funciones esenciales (7) (como sustratos para la síntesis de hormonas esteroideas) (8).

Los lípidos pueden ser simples o complejos, si bien todos contienen ácidos grasos. Se denominan también lípidos saponificables porque por hidrólisis alcalina, producen jabones (sales de ácidos grasos).

Productos derivados de los lípidos, específicamente del ácido araquidónico como son las prostaglandinas (PGs), tromboxanos (Tx), leucotrienos (Ltr), ejercen profundos efectos fisiológicos y farmacológicos de tipo hormonal y actuarían en las funciones celulares, como la respuesta inmune, se ha sugerido que las prostaglandinas (PGs) regularían la respuesta inmune por modular la actividad de un subgrupo de células T supresoras (9). Así, las PGs pueden causar inhibición de la producción de linfoquinas por los linfocitos T (10); inhibición de la blastogénesis de las células T (11). También los gangliosidos, glucoesfingolípidos, pueden modificar respuestas inmunes (12).

Por su parte, los LT actuarían como importantes mediadores de la hipersensibilidad en la anafilaxia (13). Por otro lado tanto las prostaciclina (PCI), Pgs, y Tx son importantes reguladores del flujo sanguíneo y de la interacción plaquetas-sistema vascular (14, 15). Así la PGE 2 y la PGI-2 actúan como vasodilatadores, aumentando la permeabilidad vascular durante la inflamación aguda (16).

En nuestro laboratorio se demostró que ratas alimentadas con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales (DAGE) y otras las cuales fueron suplementadas con 5% de aceite de maíz, rica en ácido linoleico, mostraron alteraciones en el desarrollo de la glándula metrial y de la decidua (17).

Estudios realizados posteriormente sobre el funcionamiento reproductor, demostraron disminución del número de implantaciones y del número de crías por camada, y del aumento de la mortalidad prenatal de las crías (18).

Nosotros sugerimos que las alteraciones reproductivas por la deficiencia en AGE, son solo parcialmente corregidas al suplementar a la dieta, ácido linoleico. Por lo que señalamos que los aportes lipídicos suficientes de solamente el ácido linoleico (18:2n-6), serían insuficientes para inducir un desarrollo placentario normal. El hecho que las 2 dietas semisintéticas ensayadas hasta ese momento fueran deficientes en 18 n-3 nos sugirió que

tal vez la serie n-3 sería esencial para el mantenimiento de la normalidad reproductiva. Esta hipótesis podría ser probada con un 4to grupo de ratas alimentadas con 5% de aceite de soja que contiene (mucho 18n-3). Por lo cual nuestro presente objetivo fue determinar si el ácido  $\alpha$ -linolénico es esencial para asegurar el desarrollo placentario normal de la rata.

**Materiales y Métodos**

Animales: 57 ratas albinas hembras de una cepa Wistar puestas en períodos alternativos de luz y sombra de 12 hs cada uno. Los animales fueron divididos en 4 grupos, cada

grupo fue alimentado ad-libitum, después del destete, con una de las siguientes dietas: Grupo 1) DAGE (deficiente en ácidos grasos esenciales: cuya composición se detalla en la Tabla 1; 2) DAM (contenía como base la misma dieta DAGE, pero en ella el 5% de almidón de maíz, fue reemplazado por 5% de aceite de maíz. Esta dieta fue suficiente solo en ácido linoleico. 3) DAS (dieta aceite de Soja, contenía como base la misma dieta DAGE, pero en ella el 5% de almidón de maíz fue reemplazado por 5% de aceite de soja. Esta dieta fue suficiente en ambos ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico. 4) DC (dieta comercial) Esta dieta es suficiente en AGE (2).

Tabla: 1  
Composición de las Dietas Semisintéticas

	DAGE*	DAM**	DAS***
Caseína.....	16.1%	16.1%	16.1%
Sucrosa.....	41.3%	41.3%	41.3%
Almidón de maíz..	38.7%	33.7%	33.7%
Mezcla de sales (1).	3.6%	3.6%	3.6%
Vitaminas (2).....	0.3%	0.3%	0.3%
Aceite de Maíz (3)..	-	5.0%	-
Aceite de Soja (4)..	-	-	5.0%

\* DAGE : Deficientes en Ácidos Grasos Esenciales

\*\* DAM: Dieta Aceite de Maíz( suficiente en ácido linoleico 18n-6 pero deficiente en  $\alpha$ -linolénico 18n-3 ).

\*\*\* DAS :Dieta Aceite de Soja( suficiente en ácido linoleico 18 n-6 y en ácido  $\alpha$ -linolénico 18 n-3.

Los componentes de la mezcla están expresados como gr/ Kg. de comida

1) *Mezcla de sales por Kg.de alimento (en gramos)*: Carbonato de calcio 13.57; Cloruro de Potasio 2.8; Ortofosfato monopotásico di-hidrógeno 5.3; Carbonato de magnesio 0.62; Sulfato de Magnesio 0.4; Cloruro de Sodio 1.72 ; Cloruro férrico 0.35.

En miligramos : Cloruro de Potasio 0.2; Cloruro de maganeso 0.87; Floruro de Sodio 2.5; Sulfato de Potasio y Aluminio 0.45; Sulfato de Cobre 2.25. La concentración de zinc fue aproximadamente 14mg/kg de dieta determinado por absorción atómica.

2) *Vitaminas (expresadas en mg/kg de alimento)*

Nicotidamida 100; Cloruro de Colina 1000; Inositol 200, Clorhidrato de pidoxina 5, Clorhidrato de Tiamina 5; Riboflavina 5 ; Ácido Fólico 5 ; Pantotenato de Calcio 10 ; Biotina 0.05; Cianocobalina 0.05; Menadiona 0.25 ; Ergocalciferol 6 ; Acetato de Tocoferol 200 ; Vitamina A (acetato)17.000

Tabla 2:  
Composición de los ácidos grasos de las dietas (%)

Dieta	Acidos Grasos				
	16:0	18:0	18:1N-9	18:2N-6	18:3N-3
DAGE	32.9	14.1	23.4	10.6	1.3
MAIZ	15.7	2.4	31.7	46.4	0.8
SOJA	11.35	2.80	20.38	55.31	9.60
DC	23.1	9	26.4	32.4	2.7

*Los acetil ester de los ácidos grasos fueron analizados por cromatografía de gas líquido, los valores obtenidos se observan en la tabla anterior.*

Cuando las ratas cumplieron tres meses de edad y en los extendidos vaginales se observó, por colpocitología, el proestro, fueron cruzadas con un macho joven de probada fertilidad, alimentado con dieta comercial. La presencia de espermatozoides en el fluido vaginal indicó el primer día de la preñez. Al día 13 de la preñez fueron sacrificadas con éter bajo campana. Los cuernos uterinos fueron disecados y se registró el número total de implantaciones existentes en ambos cuernos, discriminándose los sitios viables de los no viables (reabsorciones).

Con el propósito de obtener material para estudiar la placenta corioalantoidea en cada sitio de implantación, fue seccionado por la mitad cortando el cuerno uterino en ángulo recto a su eje longitudinal. Cada mitad fue fijada con formol al 10% y procesado según técnica histológica corriente. Los cortes de 5mm de espesor fueron coloreados con H/E y observados con microscopio óptico. Algunos cortes se colorearon con PAS para la demostración de glucógeno.

#### **Análisis Estadístico:**

Se utilizó el Test Logrank (Peto et. Al; 1977). Para este análisis se consideró a cada animal hasta el momento del sacrificio (día 13 de preñez). Las proporciones de animales con determinadas características (estériles, ciclos irregulares) fueron comparadas con el Test  $\chi^2$  (chi-cuadrado). El número de implantaciones y el número de reabsorciones fueron evaluados con el Test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

#### **Resultados**

Las glándulas metriales de la placenta corioalantoidea del grupo control (DC) se observaron constituidas por abundantes células granulares metriales (CGM), adoptaron una disposición perivascular, eran de apariencia epiteloide y presentaron diferentes grados de maduración. Algunas contenían abundantes gránulos eosinófilos intracitoplasmáticos y eran binucleadas, y otras mostraron signos de inmadurez tales como basofilia citoplasmática y escaso número de gránulos.

Las glándulas metriales de las ratas deficientes en ácidos grasos esenciales (DAGE) y las suficientes en ácido linoleico (DAM), presentaron diferencias en relación a las del grupo DC. Así, tanto en DAGE como en DAM se observó un predominio de CGM inmaduras (escaso número de gránulos y basofilia) (Figuras 1, 2). Pero mientras que en las ratas DAGE el número de CGM estaba reducido, en las DAM la proporción de CGM fue más elevada. En las ratas suficientes en ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico (DAS), el desarrollo de las glándulas metriales fue similar al del grupo DC, tanto por el grado de madurez (gránulos eosinófilos citoplasmáticos y binucleadas) como por el número de CGM (Figuras 3, 4).

Por otro lado, la cápsula fibrinoide, estructura que forma límite neto de separación entre la glándula metrial y la decidua basal, se observó en los animales DC y DAS como una banda acidófila bien definida y gruesa (Figura

5). En las ratas DAGE y DAM en cambio, estuvo representada por una reducida zona fibrosa muy adelgazada y mal definida (Figura 6).

Por otra parte, las deciduas basales de los animales DC al día 13 de gestación, estaban constituidas, normalmente, por células vacuoladas que contenían abundante glucógeno, de patrón difuso. En el grupo DAS (aceite de soja), las células decíduales, presentaron un grado de vacuolización similar al observado en DC, pero el patrón de distribución era difuso sin ninguna localización preferencial. En las deciduas basales de las ratas DAGE y DAM sus células presentaron menor grado de vacuolización que las DC. En ambos grupos el patrón de distribución del glucógeno era difuso. Sin embargo en la mayoría de las DAGE predominaba en la región interna, mientras que en las DAM y DAS no mostró una localización preferencial. Aunque en ambos grupos las CGM localizadas en la región externa de la decidua y alrededor del cono ectoplacentario presentaron un aspecto más inmaduro que en los animales DC, su número no varió en relación a ellas.

En algunos casos DAGE se detectaron sufusiones hemorrágicas leves a moderadas, pero los fenómenos congestivos fueron mayores en las DAM.

En las deciduas basales de todos los grupos se observaron vasos reepitelizados en su interior, con células trofoblásticas. En la zona interna de la decidua (próxima a la placenta fetal), las células decíduales solían constituir simplasma por donde circulaba la sangre materna. Algunas de estas células presentaban eritrofagia y en los lagos maternos se pudo observar grados variables de congestión. En los grupos DAGE, DAM y DAS el aspecto histológico de la capa de células gigantes fue similar al observado en el DC.

En todos los grupos, el espongiotroblasto o zona basal, situado entre el laberinto y las células gigantes, estuvo constituido por células citotrofoblásticas. Al día 13 de preñez, en los animales DC, las células del espongiotroblasto presentaron abundantes figuras mitóticas y se disponían en islotes o cordones atravesados por espacios que contenían sangre materna. El 20 al 30% de estas células eran pequeñas y basófilas del tipo considerado como germinal para la diferenciación

de los otros tipos. El 10% al 20% eran células con citoplasma vacuolado (glucogénicas) y el 50% al 60% restante, se estaban diferenciando hacia células gigantes (Figura 7).

En los grupos DAGE, DAM y DAS el espongiotroblasto estaba compuesto por los 3 tipos celulares descritos, pero la proporción de los mismos variaba; ya que en estos grupos se observó una tendencia hacia la diferenciación en el sentido de las células gigantes en detrimento de las células glucogénicas (Figura 8).

Esta diferenciación hacia células gigantes se acompañaba en general con cuadros congestivos de los senos maternos. Esto fue particularmente notable en las ratas DAM.

El laberinto es la zona de la placenta corioalantoidea donde se localiza la barrera placentaria. A los 13 días de la gestación, en las ratas DC el laberinto se observó constituido por tabiques trofoblásticos (vellosidades) ricamente vascularizadas por capilares fetales que estaban rodeados por escasa cantidad de mesénquima. Los senos maternos en que se hallaban inmersos los tabiques mostraron grados variables de congestión, así como algunos acúmulos linfocitarios (Figura 7).

En los grupos DAGE y DAM se observaron marcadas alteraciones en la morfología del laberinto. Así, en las ratas DAGE los tabiques estaban engrosados y algunos se presentaban como cordones sólidos de epitelio trofoblástico. En estos casos, el mesénquima fetal estaba marcadamente reducido o ausente y los septos eran avasculares (Figura 8). En los animales DAM los tabiques eran más delgados que los DAGE, pero los senos vasculares se presentaron muy congestivos y con acúmulos linfocitarios. Por el contrario, en las ratas DAS los laberintos se parecían a los DC y se observaron en dichos grupos menor proporción de acúmulos linfocitarios.

En las ratas DAGE, DAM, DAS y DC que fueron sacrificadas a los 13 días de preñez, se determinó el número total de implantaciones y de reabsorciones presentes en ambos cuernos uterinos. En el grupo DAGE la mediana del número de implantaciones fue 13; en DAM 13,5, y en los grupos DAS y DC 14. En el número total de reabsorciones se registró una mediana de 1 para los grupos DAGE y DAS, y de 0.5 y 0 para los grupos DAM y DC

respectivamente. Se registraron diferencias significativas solamente entre DAGE y MAIZ ( $P > 0.01$ ), en las otras dietas no se registraron diferencias significativas en ninguna de las 2 variables. Las variables se estudiaron comparativamente.

### Discusión

Los presentes experimentos fueron diseñados para determinar si el ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3n-3) es esencial en la dieta de la rata albina para asegurar una capacidad reproductiva eficaz.

Maeder, fue el primero en descubrir áreas de edema, congestión vascular y hemorragias en placentas y úteros de ratas DAGE, sugiriendo (8) que estos cambios podrían deberse a un aumento de la permeabilidad vascular inducida por la dieta. Se sabe también que la administración prolongada de dietas deficientes en AGE o ricas en ácido linoleico, disminuyen la agregación plaquetaria favoreciendo una tendencia hemorrágica tanto en el hombre como en los animales de laboratorio (19, 20, 21). Además se ha sugerido que la infusión de emulsiones ricas en ácido linoleico induce una neta vascularización en el lecho pulmonar del conejo (22).

En los presentes experimentos tanto las glándulas metriales como las placentas corioalantoideas de los grupos DAGE y DAM presentaron diferencias estructurales con las de los grupos DAS y DC, estas alteraciones se visualizaron tanto a nivel de la diferenciación celular como del lecho vascular.

Así, las glándulas metriales de las ratas DAGE y DAM se caracterizaron por presentar disminución en el número y/o diferenciación de las células granulares metriales (CGM), asociadas con aumento en la cantidad de tejido conectivo.

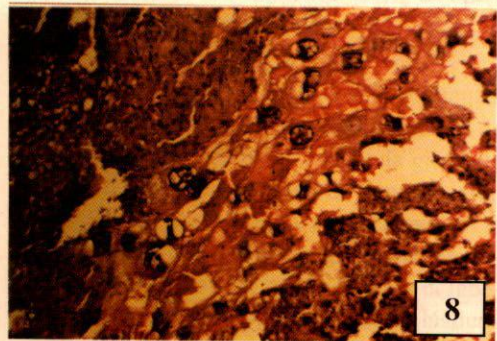
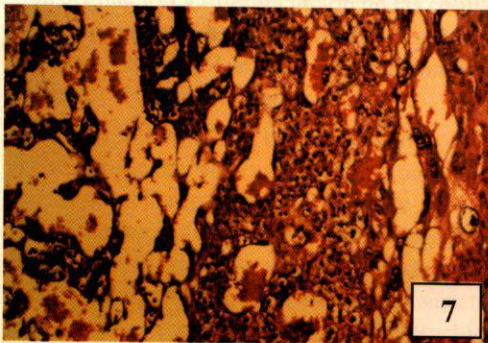
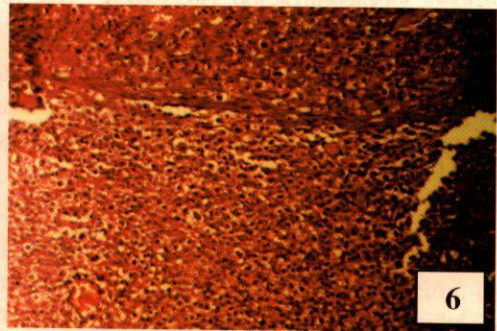
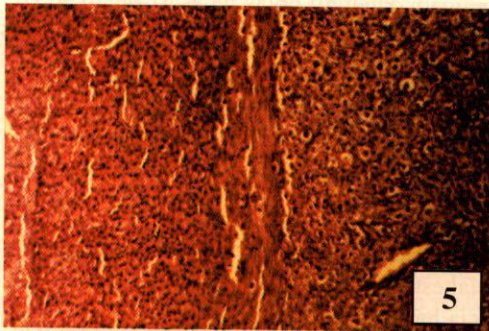
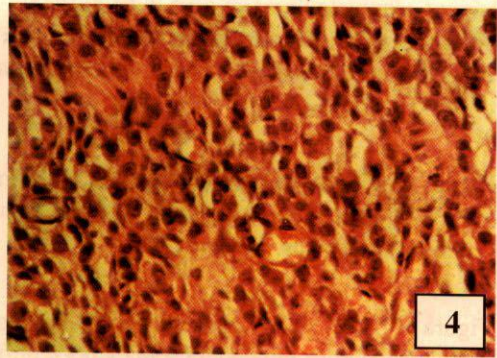
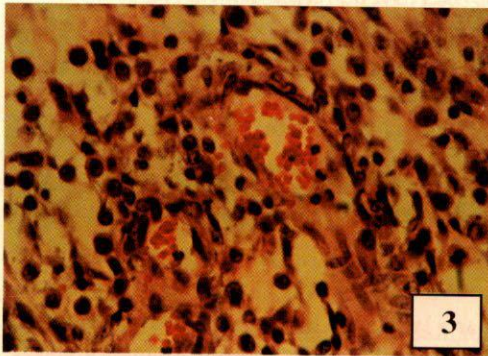
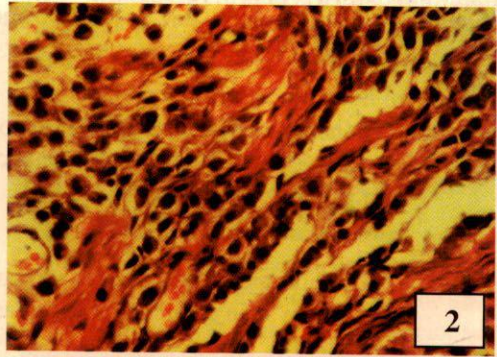
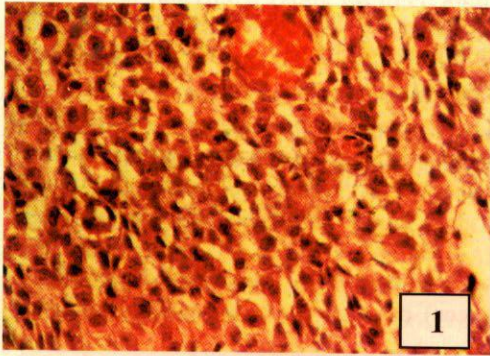
Las glándulas metriales de las ratas DAS, en cambio, fueron similares a las del grupo DC, tanto en número y cantidad de CGM como en las características del tejido conectivo.

La existencia de una relación directa entre el número de CGM y su grado de maduración con la cantidad de tejido conectivo de la glándula metrial parece estar demostrada por

algunos hallazgos previos. Así, mientras Dallenbach, y Hellweg y col. (23), localizaron relaxina en los gránulos de las CGM, Swabe y col., (22), propusieron que esta hormona induciría la disolución de las fibras colágenas y el aumento concomitante de la sustancia fundamental amorfa del tejido conjuntivo. Así, en su citoplasma, se ha localizado IgG, la que podría actuar como anticuerpo bloqueador del trofoblasto (24). El origen de las CGM, actualmente está completamente dilucidado, se sabe que derivarían de células linfoides originadas de la médula ósea, las cuales se diferenciarían in situ en el útero de los roedores preñados, dentro de la línea de natural killer (26, 27, 28) y que proliferarían durante las dos primeras semanas de gestación y posteriormente adquirirían gran número de gránulos (29), que altamente activados funcionarían interceptando y matando células placentarias y fetales aberrantes para impedir que ingresen al organismo materno y proliferen allí (30). Por lo dicho no podríamos descartar que las ratas DAGE y las DAM presentaran modificaciones de la respuesta inmune a nivel de la interfase materno-fetal, debido a la diferencia alterada de las CGM que hemos descrito, sobre todo que la diferenciación de estas células CGM, dependería de la interacción del tejido mesenquimático del útero (31) especialmente entre los días 10 y 14 de preñez, momento de la gestación en que se observa en las ratas DAGE gran aumento del tejido mesenquimático.

En las ratas de los grupos DAGE y DAM la cápsula fibrinoide se observó como una estructura mal definida y parcialmente desintegrada, mientras que en las ratas DAS presentó características similares a las observadas en las DC.

En los animales DAGE y DAM el contenido de glucógeno de las células deciduales estuvo aparentemente disminuido en comparación a lo observado en las deciduales de los grupos DAS y DC. La disminución en el contenido de glucógeno de las células deciduales así como la tendencia a la formación de las células gigantes en el espongiotrofoblasto (a expensas de la disminución de las células glucogénicas) podría quizás relacionarse con modificaciones en las funciones nutritivas, energéticas y endocrinas de estas estructuras (32).



... como en las placetas controladas de las  
... (DAG y DDM) (preparadas por el  
... estas placentas), pero no en las DAG y DAG  
... controladas que son de color rojo oscuro.

... por estas cantidades de  
... el control de DAG y DAG  
... un mayor número de células.  
... significación.

Figura 1: Glándula metrial de rata DC, con buen número y madurez de las CGM (con abundantes gránulos intracitoplasmáticos) y nula fibrosis.- H·E - 20 X HE. 20X.

Figura 2: Glándula metrial de rata DAGE, con escaso número y gran inmadurez de las CGM (escasos gránulos intracitoplasmáticos), con aumento considerable de fibrosis.  
H·E - 20 X HE. 20X.

Figura 3: Glándula metrial de ratas Maíz, con buen número CGM, pero inmaduras (células pequeñas y sin gránulos intracitoplasmáticos), con aumento de la vascularidad y escasa fibrosis. H·E - 20 X

Figura 4: Glándula metrial de rata SOJA, con buen número y madurez de las CGM (con abundantes gránulos intracitoplasmáticos), sin aumento de la vascularidad ni de la fibrosis.  
H·E - 20 X

Figura 5: Cápsula fibrinoide de ratas DC, similar a las ratas DAS, constituida por una banda bien definida y gruesa. Decidua basal con células vacuoladas con abundante glucógeno de patron difuso. H·E - 10 X

Figura 6: Cápsula fibrinoide de rata DAGE, similar a la rata DAM, representada por una zona fibrosa muy adelgazada y poco definida. La decidua basal presenta menor grado de vacuolización. H·E - 10 X HE. 10X.

Figura 7: Laberinto de ratas DC a los 13 días de gestación, se observa con tabiques trofoblásticos (vellosidades) ricamente vascularizadas, rodeadas por escasa cantidad de mesénquima. El espongiotrofoblasto, presenta espacios con sangre materna, células vacuoladas, basófilas. H·E - 40 X HE. 40X.

Figura 8: Laberinto de ratas DAGE a los 13 días de gestación, se observa cordones sólidos de epitelio trofoblástico, el mesénquima fetal está reducido, con septos avasculares. El espongiotrofoblasto mostró una tendencia hacia la diferenciación de sus células en sentido de células gigantes en detrimento de las células glucogénicas. HE. 40X.



Los laberintos (zona de intercambio materno fetal) mostraron severos cambios estructurales en las ratas del grupo DAGE con tabiques engrosados (en los que los vasos fetales eran escasos), o bien fueron cordones epiteliales sólidos, avasculares. En los animales DAM, si bien los septos eran en general más delgados, el laberinto en conjunto tenía un aspecto congestivo. Las ratas del grupo DAS, en cambio, presentaron laberintos con tabiques delgados, bien vascularizados por vasos fetales y escasa cantidad de mesénquima, tal como los observados en las ratas del grupo DC. Esto demuestra que la presencia de ácido  $\alpha$ -linolénico en la dieta es esencial para corregir las alteraciones de esta estructura.

Aunque no se conocen los factores que intervienen durante el desarrollo placentario normal podemos decir que las prostaglandinas (Pgs), prostaciclina (PGI) y trombosanos (Txs) han sido relacionados con muchos eventos de la gestación. (33, 34, 35, 36, 37).

Se ha demostrado que tanto la deficiencia en AGE como la administración prolongada de dietas ricas en ácido linoleico disminuyen la producción de Pgs (38), PGI (39) y Txs(40).

Basados en estas observaciones podríamos sugerir que las alteraciones celulares observadas en las placentas y en las glándulas metriales de las ratas DAGE y DAM podrían asociarse con una producción alterada de prostanoides, esta sugerencia podría apoyarse en observaciones de otros autores que sostienen que las PGs estarían relacionadas con la transformación y diferenciación de las células del estroma endometrial en células deciduales (41) y con el control de la actividad biosintética del tejido conjuntivo uterino (42, 43).

Los cambios en la diferenciación celular se acompañaron como dijimos con alteraciones en el lecho vascular. De hecho Maeder (8), descubrió áreas de edema, congestión vascular, hemorragias, tanto en los vasos como en las placentas de las ratas DAGE. En nuestro laboratorio se observaron, estos disturbios vasculares, tanto en las glándulas metriales como en las placentas corioalantoideas de las ratas DAGE y DAM. (predominantemente en estas últimas), pero no en las DC y DAS, sugiriéndose que ello sería debido a que aque-

llas dietas favorecerían una tendencia hemorrágica. Sin embargo, los datos del presente trabajo indicaron que las manifestaciones vasculares se presentaron en los sitios de implantación de los 4 grupos de animales utilizados, aunque con diferente intensidad según la dieta y el protocolo.

Aunque las observaciones hechas en los animales DAM sugerirían un posible efecto de las dietas, también debemos decir, que se ha demostrado que las PGs estarían relacionadas con los cambios de permeabilidad vascular que ocurren en el sitio de implantaciones y que la inmunización de roedores preñados contra PGs inducen infartos, trombosis y hemorragias placentarias.

### Conclusiones

1. El número de implantaciones y reabsorciones no parecen ser parámetros dependientes de los AGE dietéticos.
2. En las ratas que fueron solamente alimentadas con dieta DAGE, las células granulares metriales se presentaron en número reducido e inmaduras.
3. En las ratas cuyas dietas fueron deficientes en AGE, pero fueron adicionadas con aceite de maíz (rico en n-6), a nivel de la glándula metrial se observó: mayor número de células granulares metriales, pero inmaduras; en decidua sus células presentaban menor grado de vacuolización. La cápsula fibrinoide fue delgada y mal definida. En el laberinto se observó tabiques más delgados que en el grupo DAGE, pero congestivos.
4. En las ratas cuyas dietas fueron deficientes en AGE, pero adicionadas con aceite de soja, (rico en n-3); a nivel de la glándula metrial se observó número y maduración de células granulares metriales similares al grupo DC. La cápsula fue gruesa y bien definida, semejante al grupo DC. En el laberinto se observaron tabiques trofoblásticos (vellosidades) ricamente vascularizados, y rodeados por escasa cantidad de mesénquima, tal como se vio en DC.

El espongiotrofoblasto, en los 4 grupos dietarios, no mostró alteraciones de significación.

Por lo cual deducimos que la presencia del ácido  $\alpha$ -linolénico en la dieta es esencial para el desarrollo de la placenta en la rata.

### Bibliografía

- 1 Aes-Jorgensen. Essential Fatty Acids *Physiol Rew.* 41 :1-51. 1961.
- 2 Bouve, J.M ; Durand, G ; Pascal, G; and You-You, A. Brain Cell and Tissue. Recovery in Rats Made deficient in n-3 Fatty Acids by alteration of Dietary. *Fat. J. Nutr. Jan ;* 119 (1) :15-22. 1989.
- 3 Eynard, A. R.; Monis, B; Kalinec, F.; Leguizamón, R; Increased proliferation of the epithelium of the proximal alimentary tract of EFA-deficient rats. A light and electron microscopy study. *Exp. Mol . Pathol* 1982: 36: 135-143.
- 4 Araya, J; Aguilera, A.M.; Soto, A; Masson, L; Composición lipídica de la placenta de ratas con restricción de proteínas y deficiencias de acidos grasos esenciales *Arch. Lat. Amer. Neet:* 36 :327/ 337 .1986.
- 5 Menon, N.K.; C. Moore y G. A Dhopeswankar. Effect of essential fatty deficiency no material placental and fetal tissues . *J. Nutr.*, 111: 1602-1610, 1981.
- 6 Diamant Y.Z. y E. Shafir. Enzimes of carbohydrate and lipids metabolism in the placenta and liver of pregnant rats. *Biochimice et Biophysice Acta* 279; 424-439. 1972.
- 7 Burr y Burr. A new deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from the diet . *J. Biol. Chem.* 1929.
- 8 Maeder .The effect of fat in simplified diets on the reproductive organs of the female albino ratas during gestation. *Anat. Rec.* 70:405-410.1983.
- 9 Boissouneault, G.A., Johnston.P.V. Essential Fatty acid prostaglandin synthesis and humoral immunity in Lewis rats. *J. Nutr.* 70:405-410. 1983.
- 10 Gordon, D.; Bray, M.A.; and J. Morley. Control of limphokine secretion by Prostaglandin. *Nature (London )*, 262: 401-402 ; 1976.
- 11 Bourne, H.R.; Linchtenstein , L.M; Melmon, K.L.; Henney, C.S.; Weinstein, Y. and G.H. Shearer. Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP: Receptors of inflammation regulate many leucocyte functions. *Science*, 184: 19-28. 1974.
- 12 Cabral, H.R.A; Novak, I.T.C. Effects of exogenous gangliosides "in vitro" on Cytologic and Immunologic activities, of Lymphocytes from patients with Chagas Disease (abstract) *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.91, Suppl., November, P.251.* 1996.
- 13 Bray, M.A. The pharmacology and pathophysiology of leucotriene B4 . *Br. Med. Bull.*, 39; 249-254.1983.
- 14 Resnik, R. and G.W. Brink. Uterine vascular response to prostaglandin in nonpregnant sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 137 :267-270; 1980.
- 15 Scharmamm, W.; Einer-Jensen, N.Brown, M.B. and J.A. Mc Craken Effect of four myometrium. *Biol. Reprod.* 30: 523-231. 1984
- 16 Moncada, S. ; Gryglewski, R.; Bunting, S. And J.R. Vane: An enzyme islated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature (London )*, 263(5579): 663-665.1976.
- 17 Parlanti, I.A.; Orellana L.C. The influence of essential fatty acid deficient diet on the reproductive performance of female rats. *Reprod. Nutr. Develop.* 25: 851-860 1985.
- 18 Weine and Sprecher H. Arachidonic acid 5, 8, 11-eicosatrienoic acid 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic acid. Dietary manipulation of these acids in rat liver and platelet phospho-lipids and their incorporation into human platelet lipids . *Biochem Biophs Acta:* 792: 293-303. 1984.
- 19 Bourne, H.R., Linchtenstein, L.M. ; Melnon, K.L.; Hennz, C.S.; Weinstein and G.M. Shearer. Modulation on inflammation and immunity by cyclic AMP: Receptors for vasoactive hormones and mediators of inflammation regulate many leucocyte functions. *Science*, 184 :19-28 .1974.
- 20 Hunt, C.E.; Gora, P.; Inwod, R.J.; Pulmonary effects of Intralipid. The role of intralípíd as prostagaldin precursor. *Prog. Lipid. Res;* 20:199-04; 1981.

- 21 Dallenbach, H. ; Battista, J.V.; Dallenbach; F.D.; Immunological and histochemical localization of relaxin in the metrial gland of pregnant rat. *Am.J.Anat.* 117:433,450. 1965.
- 22 Swabe, C.; Steinetz, B.; Weiss, G.; Segaloff, A.; Mc Donald, J. K.; O' Byrne, J.; Hochman, J. ; Carriere, B. and Glodsmith, I. Relaxin. *Recent Prog. Horn. Res.*, 34:123-221. 1978.
- 23 Stewar, I; Peel, S. An investigation into the differentiation of granulated metrial gland cells in the early pregnant mouse uterus. *J.Anat.*, 137: 85-93.1978.
- 24 Lala, P. K.; Kearns, M.; and Colavincenzo. Cells of the fetomaternal interface: Their role in the maintenance of viviparous pregnant uterus . *Am.J. Anat.* 170 :501-510. 1984.
- 25 Ye, W. Zheng L.M.; Young, J.D.; Liu, C.C. The involment of interleukin (IL) 15 in regulating the differentiation of granulated metrial gland cells in mouse pregnant uterus. *J. Exp. Med.*, Dec. 184 : 6 2405-10 ;1996.
- 26 Kiso, Y.; Kusakabe, K.; Tokunaga, Y; Makita, M.; Okada, T.; Sasaki, F.; A study of granulated metrial gland cells in the pregnant, alymphoplasia (aly/aly) mice . *J. Vet. Med. Sci*, Dec. 59: 12, 1137-41 :1977.
- 27 Croy, A. B.; Daniel S. and Guimond M., Departament of Biomedical Sciences, University of Guelp, on Cnada NIG 2 W1. Influences of the Maternal immune system of fetal Development . *International Workshop for the Maternal-placental-fetal dialogue . Maui Marriot, Hawaii . USA* 1996.
- 28 Parr, E., Young , L.H.; Parr, M.B.; Young, J.D. Granulated metrial gland cells of pregnant mouse uterus are natural Killer like cells that contain perforin and serine esterases. *J. Immunol.* Oct. 1 ; 145 (7):2365-72 . 1990.
- 29 Bulner, D. Further studies on the granulated metrial gland cells of the pregnant rat. *J.Anat*, 103: 479-489. 1968.
- 30 Phillips, C.A. ; Poyser, N.I. Studies on the involment of prostaglandin in implantation in the rat . *J. Reprod. Fertil.*, 62: 73-81. 1981.
- 31 Siiteri, P.K.; and Stites, D.P. Immunologic and endocrine interrelationships in pregnancy. *Biol. Reprod.* 26: 1-14. 1982.
- 32 Kennedy, T.C.; Lukash, L.A. Induction of decidualization in ratas by the intrauterine infusion of prostaglandins. *Biol. Reprod.* 27: 253-260. 1982.
- 33 Hiller, K.; Wallis, R. Collagen solubility and tensile properties of the rat uterine cervix in late pregnancy effects of arachidonic and prostaglandin F2 J. *Endocrinol* 95: 341-347. 1982.
- 34 Norström, A.L.; Wilhelmsen; Hamberger, L.; Experimental studies on the influence of prostaglandin on the connective Tissue of the Human Cervi Uteri. *Acta Obstet Gynecol Scand (suppl)* 113: 167-170; 1970.
- 35 Kennedy, T.G. Timing of uterine sensitivity for the decidual cell reaction Role of prostaglandins. *Biol-Reprod* 30-544-555.1980.
- 36 Crawford, M; Background to essential fatty acids and their prostanoid derivates. *Br. Med.Bull.* 39: 210-213. 1983.
- 37 Agradi, E.; Tremoli, E.; Petroni, A.; and Galli, C.; Dietary linoleic acid in Tissue Lipids and Production of TXB2 and PG 12 in the Cardiovascular System. *Prog. Lipid. Res.* 20: 485-489, 1981.
- 38 Friedmasn, Z.; Effects of dietary variation in linoleic acid content on prostaglandin Synthesis in infants. *Prog. Lipid. Res.* 20: 59-66. 1981.
- 39 Presler, L; Whitten, C.F.; Paulsreid and Holman, R. T. Serum fatty acid changes during fat free intravenous therapy. *J. Pediatr.* 78: 1067-1072.1971.
- 40 Hiller, K.; Wallis, R.; Collagen solubility and tensile properties of the rat uterine cervix in late pregnancy effects of arachidonic acid and prostaglandin F2. *J. Endocrinol.*, 95: 341-347. 1982.
- 42 Norström , A.I.; Wilhelmsen; Hamberger, L.; Experimental studies on the influence of prostaglandins on the connective tissue of the human cervix uteri. *Acta Obstet. Gynecol Scand (suppl)* 113:167-170. 1983.