

## **INMUNOLocalización DE DESMINA Y VIMENTINA EN PLACENTAS CAPRINAS SOMETIDAS A UN MODELO DE RESTRICCIÓN ALIMENTARIA. ARGENTINA**

**Anabela, Benzoni Chiaretta<sup>1</sup>, Andrea Lorena, Cristofolini Córdoba<sup>2</sup>, Mariana Rita, Fiorimanti Bessone<sup>2</sup>, María Paula Turiello<sup>3</sup>, Tomás, Diaz Torres<sup>4</sup>, Oscar Enaldo, Luján Torres<sup>1</sup>, Fernando, García Arjona<sup>5</sup>, Cecilia Inés, Merkis Jaime<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup> Cátedra de Análisis Clínico, Dpto. de Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup> Área de Microscopía Electrónica, Dpto. de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup> Cátedra de Nutrición Animal, Dpto. de Producción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

<sup>4</sup> Laboratorio de Embriología, Dpto. de Anatomía Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

<sup>5</sup> Dpto. de Reproducción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

[anabenzoni@gmail.com](mailto:anabenzoni@gmail.com) [alcrstofolini@gmail.com](mailto:alcrstofolini@gmail.com)

### **Resumen**

El objetivo fue estudiar la inmunolocalización de los filamentos intermedios, desmina y vimentina en placentas a término de cabras Anglo-Nubian, sometidas a restricción alimentaria prepuberal. Las hembras fueron mantenidas en restricción energética por 250 días, luego fueron alimentadas a voluntad; el servicio se realizó por monta natural; luego de la parición las placentas fueron recolectadas. Se tomaron muestras cotiledonarias, se fijaron en formaldehído tamponado, cortes de 4 µm fueron teñidos con hematoxilina-eosina para el análisis de la estructura placentaria y el resto se destinaron para la detección de desmina y vimentina por inmunofluorescencia. La

estructura microscópica de los cotiledones presentó características típicas de una placenta sinepiteliocorial, adecidua a término; membranas fetales con restos celulares generados por la ruptura de las vellosidades placentarias para su expulsión luego del parto. Si bien se pudo apreciar una menor cantidad de vasos sanguíneos en las placentas de cabras restringidas, no se observaron cambios estructurales significativos. El análisis de la distribución de intensidad de fluorescencia determinó una disminución de ambos filamentos intermedios, siendo significativa para vimentina en placentas restringidas. Dados los procesos en los que interviene vimentina, la disminución de su localización en placentas de hembras restringidas, estaría afectando la integridad del tejido placentario; lo que coincide con el incremento de la remodelación celular por apoptosis determinada en estudios previos, atribuibles al tratamiento nutricional.

## **1- Introducción**

En Argentina, la producción caprina ostenta bondades como actividad económica, en estrecha relación a la situación de los países en desarrollo, con sus excedentes de mano de obra y en la búsqueda de nuevas alternativas productivas que comulgan con la preservación de los recursos y la calidad de vida, sumándose a esto la técnica, con su oportunidad de intensificar la producción en calidad y cantidad, dando una nueva dimensión a las potencialidades del minifundio, modalidad de producción, donde se encolumna la gran masa de productores <sup>1</sup>. Los sistemas productivos en el país son predominantemente extensivos sobre pastizales naturales muy degradados por sobre pastoreo y tala indiscriminada <sup>2</sup>.

En la provincia de Córdoba, en particular, la crianza de ganado caprino tiene relevancia por cuanto es uno de los pocos recursos que permite obtener ingresos a numerosas familias campesinas que desarrollan la actividad con un nivel tecnológico tradicional <sup>3</sup>. Estas explotaciones caprinas responden a una economía de subsistencia, de carácter familiar, con grandes carencias de registros técnicos y económicos, que se distribuyen en zonas marginales poco aptas para otras actividades <sup>4</sup>. La cría extensiva de cabras con escasos insumos externos, con poco manejo y con una estacionalidad en la producción en los meses estivales, dan como resultado una baja eficiencia reproductiva/productiva, más aún si se considera, que las cabras son susceptibles a abortos frecuentes <sup>5</sup> haciendo aún más vulnerable a estos sistemas de producción.

Los beneficios en la cría de animales de granja dependen de la eficiencia en la producción, del crecimiento y el desarrollo después del nacimiento y de la disminución de la mortalidad neonatal. Para optimizar esto, es importante partir de un eficiente crecimiento fetal y un buen peso al momento del nacimiento <sup>6,7</sup>. El tamaño y estructura placentaria, así como la capacidad de ésta para transferir nutrientes, determina un buen desarrollo fetal y esto incide directamente sobre el peso al nacimiento. La cabra posee una placenta sinepiteliocorial, cotiledonaria y adecidua <sup>8</sup>; los placentomas son las unidades funcionales y de intercambio de nutrientes en la unidad fetoplacentaria <sup>9</sup>. Los mismos se forman durante la implantación, el cual es el proceso que resulta de la fijación del *conceptus* al endometrio materno, llevando al establecimiento de las estructuras placentarias. La implantación se inicia sobre las proyecciones aglandulares elevadas de la pared uterina llamadas carúnculas. El epitelio coriónico que recubre las mismas se vuelve focalmente engrosado formando los cotiledones, que desarrollan pliegues paralelos interdigitándose en las ranuras correspondientes sobre las criptas de la superficie caruncular <sup>10</sup>. En ovinos, este proceso comienza a los 15-16 días de gestación y culmina a los 56 días de la misma <sup>11</sup>, quedando establecido el número final de placentomas. En caprinos, nuestros estudios determinaron que el número de placentomas varía entre individuos desde 85 a 179 <sup>3</sup>. El normal desarrollo placentario comprende un importante crecimiento vascular con el fin de soportar las demandas crecientes de gases y metabolitos del feto. En gestaciones comprometidas debido a factores de estrés materno tales como sobre o subnutrición, edad materna avanzada, alteración del índice de masa corporal o antecedentes genéticos, dan como resultado un desarrollo vascular placentario alterado. Esto afecta negativamente el crecimiento y la función placentaria y, en última instancia, resulta en bajo desarrollo gestacional <sup>12,13</sup>. Además, el óptimo establecimiento del sistema de sostén placentario sobre el cual se desarrollará el lecho vascular, permitirá el correcto intercambio materno-fetal <sup>14,15</sup>. Dentro del sistema de sostén se encuentran los filamentos intermedios presentes en el citoesqueleto celular. Los mismos se hallan involucrados en numerosas e importantes funciones celulares, entre ellas, el mantenimiento de la organización celular y el contacto célula-célula <sup>16, 17</sup>. Constituyen un grupo de proteínas relacionadas a la diferenciación del citoesqueleto <sup>18</sup> compuestos por una familia de al menos 5 clases de proteínas, cada una de las cuales presenta una especificidad tisular distinta, entre las que encontramos a desmina y vimentina <sup>16, 17</sup>. La desmina, proteína de 52 kD, forma el citoesqueleto de las células musculares lisas, esqueléticas y cardíacas, proporcionando una red

citoesquelética para la inserción e integración mecánica de las proteínas contráctiles<sup>19,20</sup>. Por su parte, vimentina, constituye una proteína de 57 kD, que se encuentra en diferentes tipos celulares en su estado embrionario para ser reemplazados por los filamentos intermedios específicos en el proceso de diferenciación de las células mesenquimáticas a fibroblastos, células endoteliales, condrocitos, histiocitos y algunas células musculares lisas constituyentes de paredes vasculares<sup>21, 22</sup>.

Se ha estudiado que la presencia de los filamentos intermedios, desmina y vimentina, juega un rol fundamental en la implantación y en el desarrollo placentario en diferentes especies<sup>17,23</sup>. Los primeros estudios placentarios caprinos en Argentina han sido realizados por nuestro equipo de investigación<sup>3,24,25,26</sup>. Sin embargo, es necesario continuar estudiando la estructura placentaria para poder reconocer aquellas modificaciones adaptativas originadas como consecuencia de una subalimentación materna.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la inmunolocalización de los filamentos intermedios, desmina y vimentina en placentas a término de cabras Anglo-Nubian, provenientes de hembras sometidas a restricción alimentaria prepuberal.

## **2- Materiales y métodos**

### **2-1 Animales**

El estudio fue realizado sobre muestras placentarias a término, obtenidas de cabras Anglo-Nubian consideradas libres de enfermedad (n= 10), provenientes de un establecimiento de cría extensiva de la zona de Río Cuarto, Córdoba, Argentina (33,11° S, 64,3° O).

### **2-2 Modelo de restricción alimentaria**

La restricción alimentaria energética, se realizó durante la etapa prepuberal, con posterior realimentación, 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, bajo condición de fotoperíodo natural<sup>27</sup>. Los animales fueron asignados según peso vivo (PV), a dos grupos de similar peso promedio, que recibieron diferentes tratamientos: C (n=5): grupo control, animales con consumo de materia seca (CMS) a voluntad y R (n= 5): grupo restringido, animales sometidos a una restricción del 50% 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 pudieron 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 2º estación reproductiva. El servicio se realizó por monta natural. Luego de la parición las placentas fueron recolectadas inmediatamente tras su expulsión.

### **2-3 Técnica de histología convencional para microscopía óptica**

Se tomaron muestras de cotiledones los cuales fueron fijados en formol tamponado al 10% por 48 h, se deshidrataron en baterías de alcoholes de graduación creciente a 38-40 °C. Luego se aclaró el tejido mediante 3 pasajes por xilol, 10 min cada uno; y se impregnó colocándolo en parafina fundida a 51 °C de 2 a 4 h. Los tejidos fueron seccionados en un micrótopo IEC Minetome en delgadas láminas de 5 a 6 µm las que se colocaron en agua atemperada a 52 °C para ser recogidas sobre portaobjetos y luego ser secados sobre platina térmica. Parte de los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina para el análisis por microscopía óptica de la estructura tisular placentaria y el resto se destinaron para la detección de desmina y vimentina por inmunofluorescencia.

### **2-4 Determinación de desmina y vimentina**

Para la inmunolocalización de los filamentos intermedios desmina y vimentina, se utilizaron los anticuerpos comerciales anti-desmina RTU-DES-DERII y anti-vimentina RTU-VIM-V9, ambos de Novocastra®, USA. Las secciones placentarias obtenidas en el *ítem 2.3* fueron desparafinadas y rehidratadas en solución salina tamponada (PBS) pH 7,2-7,4. La incubación con el primer anticuerpo se realizó en cámara húmeda durante 1 hora a temperatura ambiente, cubriendo las secciones con una película de Parafilm® para distribuir homogéneamente el anticuerpo sobre el tejido. Luego de lavar con PBS se realizó la incubación con el segundo anticuerpo anti-IgG conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FL-2001, Vector®, USA), durante 1 hora a temperatura ambiente en cámara húmeda y en oscuridad. Las muestras fueron observadas a través de un microscopio óptico/epifluorescente Axiophot (Carl Zeiss, Alemania), adquiriendo las imágenes mediante una cámara digital Powershot G6, 7.1 megapixels (Canon INC,

Japón) adosada al microscopio. Se realizó un estudio semicuantitativo, donde se determinó la intensidad de fluorescencia mediante una escala normalizada en donde (++) era indicativo de fluorescencia abundante, (+) de fluorescencia positiva y (-) de fluorescencia negativa o ausencia de fluorescencia. Luego la distribución de la intensidad de fluorescencia fue determinada mediante un valor de High Score (HSCORE), calculado a través de la sumatoria de los porcentajes de tejido placentario marcados a cada nivel de intensidad y multiplicado por el ponderado para esa intensidad de fluorescencia de la siguiente manera:  $HSCORE = \sum P_i (i+1)$ , donde  $i$  representa el valor de intensidad y  $P_i$  el porcentaje de células marcadas correspondientes. Los valores fueron determinados por dos investigadores a diferentes tiempos y su promedio fue calculado.

### **2-5 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el software InfoStat <sup>28</sup>, mediante un ANOVA con un test *a posteriori* LSD-Fisher para evaluar la dependencia de las moléculas analizadas con respecto al tratamiento nutricional.

### **3- Resultados y Discusión**

Todas las cabrillonas llevaron su gestación a término, no habiéndose registrado ninguna anormalidad en este periodo. No se detectaron diferencias a nivel del peso medio de las placentas, ni del número de placentomas, la restricción alimentaria en la etapa prepuberal no afectó el desarrollo placentario ni sus características morfológicas <sup>24,27</sup>.

La estructura microscópica de los cotiledones presentó características típicas de una placenta sinepiteliocorial, adecidua a término; membranas fetales con restos celulares generados por la ruptura de las vellosidades placentarias para su expulsión luego del parto. En cortes histológicos coloreados con hematoxilina-eosina se pudo apreciar el plegamiento de la membrana corioalantoidea conformando las vellosidades placentarias caprinas. En el epitelio trofoblástico se visualizaron células cilíndricas dispuestas en empalizada y numerosas células trofoblásticas gigantes binucleadas, además, se observó un mesénquima fetal laxo muy vascularizado con presencia de vasos sanguíneos de diverso calibre, algunos ubicados muy próximos al epitelio, tal lo determinado en publicaciones anteriores <sup>26</sup>. Diaz *et al* <sup>25</sup> determinaron un aumento significativo de la densidad capilar del tejido cotiledonario en placentas caprinas a término, si bien en el presente estudio el análisis estructural ha sido descriptivo, se

pudo apreciar una menor cantidad de vasos sanguíneos en las placentas de cabras restringidas.

El filamento intermedio desmina presentó tanto en placentas controles como restringidas una marcación positiva y abundante en el epitelio fetal, positiva en el tejido conectivo adyacente al epitelio y abundante en el contenido de vasos sanguíneos. El análisis de la distribución de intensidad de fluorescencia determinó una disminución no significativa para desmina en placentas restringidas ( $p > 0,05$ ) (Tabla I y Figura 1).

En tejido placentario control, vimentina presentó una marca abundante en el epitelio fetal, positiva y abundante por zonas en el tejido conectivo, mientras que en el contenido de los vasos sanguíneos la localización de vimentina fue abundante. En las placentas sometidas a la restricción alimentaria, la inmunolocalización de vimentina fue abundante y dispuesta de manera puntillada en el ápice de las vellosidades fetales, y positiva en la base de las mismas y en tejido conectivo, mientras que en el contenido de vasos sanguíneos la marcación fue abundante. El análisis de la distribución de intensidad de fluorescencia arrojó una disminución estadísticamente significativa para la inmunolocalización de vimentina en placentas del grupo restringido ( $p < 0,05$ ) (Tabla II y Figura 2).

La presencia de los filamentos intermedios desmina y vimentina en el microambiente placentario/fetal, favorecen el mantenimiento de la integridad tisular durante el desarrollo placentario<sup>16,17,23</sup>. En placentas de cabras sometidas a restricción alimentaria durante la etapa peripuberal, se determinó una disminución de ambos filamentos intermedios, siendo significativa para vimentina. Dados los procesos de diferenciación de fibroblastos y células endoteliales en los que interviene vimentina, la disminución de su inmunolocalización afectaría la integridad del tejido placentario, destacándose además, una menor observación de vasos sanguíneos. Esto coincide con trabajos previos en donde hemos determinado en placentas caprinas sometidas al mismo ensayo nutricional, una mayor remodelación tisular por apoptosis, atribuible al tratamiento nutricional<sup>24</sup>.

De manera que aunque la restricción alimentaria prepuberal de las madres no indujo cambios histológicos placentarios significativos, produjo una disminución en la localización de filamentos intermedios, especialmente de vimentina, lo que afectaría algunos procesos de diferenciación celular y de integridad tisular placentaria; para lograr el mantenimiento de la homeostasis tisular se inducirían procesos de remodelación celular necesarios para el sostenimiento de la preñez. Resulta necesario

continuar con estudios de proteínas de matriz extracelular placentaria, así como de morfometría tisular y vascular

#### **4- Conclusiones**

El presente estudio muestra el efecto del tratamiento nutricional prepuberal de las madres, sobre la localización placentaria de los filamentos intermedios, especialmente de vimentina. La placenta caprina bajo estas condiciones, desarrolla adaptaciones fisiológicas para mantener la integridad tisular y garantizar el intercambio materno-fetal hasta la parición.

#### **Bibliografía**

- 1- De la Rosa Carbajal S. Producción caprina. En: Manual de producción caprina. 1a Edición, CEDEVA, Formosa, Argentina, 2011. 1-10.
- 2- Chagra Dip E, Leguiza H, Cortéz S, Aguilar G, Varas M. Evaluación de los pesos al nacimiento, el crecimiento y consumo de leche de cabritos criollos en un sistema de manejo intensivo. *Revista Argentina de Producción Animal*, 2010; 2: 131 -132.
- 3- Diaz T. Estudio del desarrollo placentario, angiogénesis y expresión de factores angiogénicos en placentas de cabras. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina. 2018.
- 4- Bedotti D, Gómez A, García A, Sánchez M, Perea J, Rodríguez V. Estructura productiva de las explotaciones caprinas del oeste pampeano (Argentina) *Archivos de Zootecnia*. 2007; 56(213): 91-94.
- 5- Paz R, Alvarez R, Castaño L. Parámetros técnico-productivos y tipologías en los sistemas caprinos tradicionales en áreas de secano. *Arch. Latinoam. Prod. Anim*. 2000; 8(2): 59-68.
- 6- Blair H, Jenkinson C, Peterson S, Kenyon P, Van Der Linden D, Davenport L, *et al*. Dam and grand dam feeding during pregnancy in sheep affects milk supply in offspring and reproductive performance in grand offspring. *Journal of Animal Science*. 2010; 88: 40-50.
- 7- Greenwood P, Thompson A, Ford S. Postnatal consequences of the maternal environment and of growth during prenatal life for productivity of ruminants. Managing the prenatal environment to enhance livestock productivity. *Journal of Animal Science*. 2012; 90:1338-1348.
- 8- Wooding P, Burton G. Comparative placentation: structure, functions and evolution. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 2008; 1-291.
- 9- Hafez S, Borowicz P, Reynolds L, Redmer D. Maternal and fetal microvasculature in sheep placenta at several stages of gestation. *Journal of Anatomy*. 2010; 216(3): 292-300.
- 10- Sammin D, Markey B, Bassett H, Buxton D. The ovine placenta and placentitis, a review. *Veterinary Microbiology*. 2009; 135(1): 90-97.

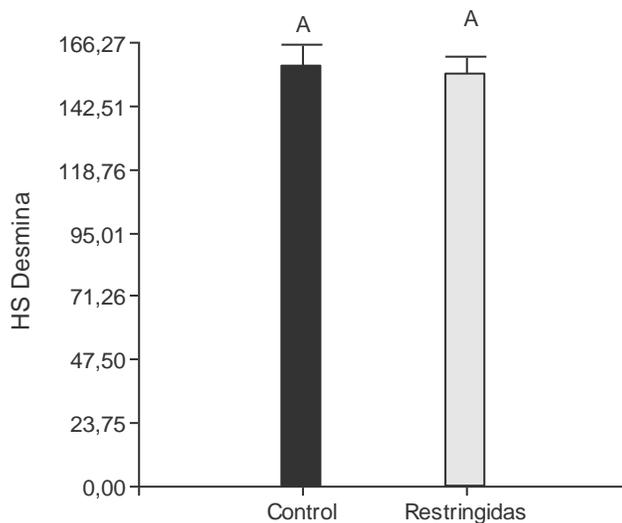
- 11- Igwebuiké U, Ezeasor D. The morphology of placentomes and formation of chorionic villous trees in West African Dwarf goats (*Capra hircus*). *Veterinarski arhiv*. 2013; 83(3): 313-321.
- 12- Reynolds L, Borowicz P, Caton J, Vonnahme K, Luther J, Buchanan D, *et al*. Uteroplacental vascular development and placental function: an update. *International Journal of Developmental Biology*. 2010; 54(2-3): 355-365.
- 13- Bairagi S, Quinn K, Crane A, Ashley R, Borowicz P, Caton J, *et al*. Maternal environment and placental vascularization in small ruminants. *Theriogenology*. 2016; 86(1): 288-305.
- 14- Merkis C, Cristofolini A, Sanchis E, Koncurat M. Expression of death cellular receptors FAS/CD95 and DR4 during porcine placentation. *International Journal of Morphology*. 2010; 28(3): 829-834.
- 15- Sanchis E, Cristofolini A, Merkis C. Matriz extracelular y vascularización en la placenta porcina. OPN, Fg, colágeno y VEGF. Ed. EAE, Saarbrücken, Alemania: Editorial Académica Española. LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG; 2012.
- 16- Oliveira S, Greca C, Abrahamohn P, Reis M, Zorn T. Organization of desmin-containing intermediate filaments during differentiation of mouse decidual cells. *Histochem Cell Biol*. 2000; 113: 319-327.
- 17- Korgun E, Cayli S, Asar M, Demir R. Distribution of laminin, vimentin and *desmin* in the rat uterus during initial stages of implantation. *J Mol Histol*. 2007; 38(4): 253-60.
- 18- Yoon K, Fitzgerald P. Periplakin interactions with lens intermediate and beaded filaments. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50(3):1283-1289.
- 19- Wei Y, Li Y, Chen C, Stoelzel K, Kaufmann A, Albers A. Human skeletal muscle-derived stem cells retain stem cell properties after expansion in myosphere culture. *Exp Cell Res*. 2011; 317(7): 1016-1027.
- 20- Rodriguez MA, Liu JX, Parkkonen K, Li Z, Pedrosa Domellöf, F. The cytoskeleton in the extraocular muscles of desmin knock out mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018; 59: 4847-4855.
- 21- Moretti RM, Mai S, Montagnani Marelli M, Rizzi F, Bettuzzi S, Limonta P. Molecular mechanisms of the antimetastatic activity of nuclear clusterin in prostate cancer cells. *Int J Oncol*. 2011; 39(1): 225-234.
- 22- Park S, Park P. Growth hormone can decrease muscle damage complication in tibia lengthening by external fixation. *J Pediatr Orthop*. 2011; 31(4): 402-412.
- 23- Sak, M, Deveci, E, Turgut, A, Sak, S, Evsen, M, Gul, T, *et al*. Placental expression of vimentin, desmin and ultrastructural changes in the villi in patients with HELLP syndrome. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2013; 17: 874-878.
- 24- Cristofolini A, Turiello M, Sanchis E, Cufre G, Merkis C. Effect of feed restriction and realimentation with monensin supplementation on placental structure and ultrastructure in Anglo-Nubian goats. *ISRN Veterinary Science*. 2012; ID 490530: 1-10.
- 25- Diaz T, Merkis C, Cots D, Sanchis E, Cristofolini A, Romanini M, *et al*. Angiogenesis at different stage of pregnancy in goat placenta. *Journal of Life Sciences*. 2015; 9: 391-398.
- 26- Turiello P, Cristofolini A, Fiorimanti M, Diaz T, Cavaglieri L, Merkis C. Effect of prepuberal nutrition on cellular apoptosis and proliferation in at term placenta of Anglo Nubian goat. *Reproduction in Domestic Animal*. 2019; 54: 560-570.

- 27- Turiello P. Incidencia del nivel nutricional sobre el estado metabólico y hormonal en cabrillonas y su repercusión sobre la eficiencia reproductiva. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 2012.
- 28- Di Rienzo J, Casanoves F, Balzarini M, Gonzales L, Tablada M, Robledo C. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2018.

## Anexos

**Tabla I-** Distribución de intensidad de inmunomarcación High Score (HS) del filamento intermedio desmina en placentas caprinas de madres controles y sometidas a restricción alimentaria (HS =  $\sum P_i (i+1)$ , donde  $i$  representa el valor de intensidad y  $P_i$  el porcentaje de marcación).

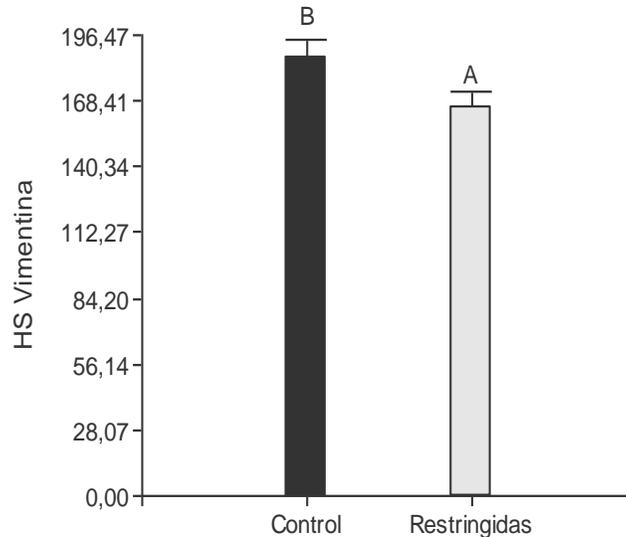
Placenta caprina	Control	Restringida
Valores de High Score para desmina.	160	200
	170	200
	140	180
	160	190
	140	150
	145	150
	155	100
	145	100
	140	185
	180	190
	180	190
	170	170
	160	180



**Figura 1-** Análisis estadístico de la distribución de intensidad de inmunomarcación (HS) del filamento intermedio desmina. No existen diferencias significativas entre los valores de intensidad de desmina en las placentas en estudio (*medias con una letra común no son significativamente diferentes* ( $p > 0,05$ )).

**Tabla II-** Distribución de intensidad de inmunomarcación High Score (HS) del filamento intermedio desmina en placentas caprinas de madres controles y sometidas a restricción alimentaria ( $HS = \sum P_i (i+1)$ , donde  $i$  representa el valor de intensidad y  $P_i$  el porcentaje de marcación).

Placenta caprina	Control	Restringida
Valores de High Score para vimentina.	175	190
	175	190
	180	180
	190	180
	160	190
	175	190
	175	200
	200	200
	210	200
	190	180
	180	190
	200	100
	210	100



**Figura 2-** Análisis estadístico de la distribución de intensidad de inmunomarcación (HS) del filamento intermedio vimentina. Se observa una disminución estadísticamente significativa en placentas de madres sometidas a restricción alimentaria (*medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*).