

EXPRESIÓN DE BCL-2 y BAX DURANTE LA GESTACION EN PORCINOS

MERKIS C.*², CRISTOFOLINI, A.², BARROSO, F.², VAQUER, V.², LLORET, M.², ALONSO G.¹,

CHANIQUE A.², SCHLEEF, N.², ZUBELDÍA, D.² Y M. KONCURAT².

¹Facultad de Cs. Veterinarias. UNLPam. ²Área de Microscopía Electrónica, Dpto. Patología Animal. Facultad de Agron y Vet.UNRC Ruta N° 8, Km 601. Río Cuarto, Córdoba. ARGENTINA.

cmerkis@ayv.unrc.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La apoptosis es un fenómeno biológico fundamental, permanente, dinámico e interactivo, esencial para el correcto desarrollo de un proceso reproductivo trascendental como es la placentación (1,2,3,5). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la expresión de la proteína apoptótica BAX y el regulador antiapoptótico BCL-2, en muestras placentarias porcinas, provenientes de diferentes períodos gestacionales y en útero vacío, a fin de detectar los mecanismos apoptóticos-antiapoptóticos de la vía intrínseca que acontecen durante la placentación porcina, necesarios para lograr una preñez exitosa.

METODOLOGÍA

Se utilizaron cortes histológicos $\pm 4 \mu\text{m}$ fijados en formol salino tamponado de placentas porcinas provenientes de $\pm 30, 55, 70$ y 114 días de gestación y de útero vacío. Para detectar la presencia del regulador proapoptótico BAX y de la proteína antiapoptótica BCL-2, se realizó una técnica de inmunoperoxidasa con anticuerpos comerciales. Los resultados se expresaron en forma semicualitativa, determinando que: (-): negativo, (\pm): pobre, (+): positivo, (++) : abundante, (+++) : cuantioso marcaje. Para cada período gestacional se determinó la distribución de la intensidad de inmunomarcación a través del valor de High Score (4).

High Score = $\sum Pi (i + 1)$, i = intensidad de marcación
 Pi = % para cada intensidad

La detección de la fragmentación de ADN se realizó mediante la técnica de TUNEL utilizando el equipo comercial ApopTag®.

RESULTADOS

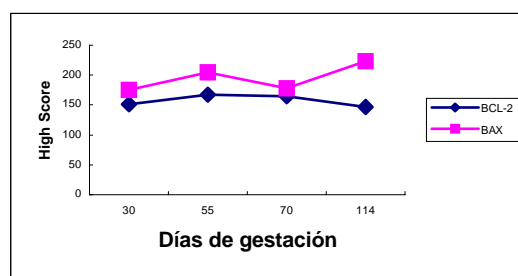
En la Tabla N°1 se expresa la intensidad de inmunomarcación de las proteínas pro y antiapoptótica, BAX y BCL-2, respectivamente; en los diferentes estadios gestacionales estudiados.

Tabla N°1- Inmunomarcación de BAX y BCL-2 en placentas porcinas de $\pm 30, 55, 70$ y 114 días de gestación.

Período gestacional	VELLOSIDAD PLACENTARIA		TEJIDO CONECTIVO	
	BAX	BCL-2	BAX	BCL-2
30 días	(+)	(-)	(+)	(+)
55 días	(-)	(-)	(++)	(+)
70 días	(-)	(-)	(++)	(+)
114 días	(+)	(-)	(++)	(+)

gestación.

En el Gráfico N° 1 se observan los valores de High Score de los marcadores BAX y BCL-2 respectivamente, en los diferentes períodos gestacionales estudiados.



DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En la Tabla N° 1, observamos la inmunexpresión de BAX y BCL-2 en vellosidades placentarias y en tejido conectivo en los diferentes estadios de preñez. En el Gráfico N° 1 se presentan los valores de HScore para las proteínas estudiadas. A los 30 días se detectaron valores de HScore positivos con el marcador apoptótico BAX, los que aumentaron en dos periodos estudiados, 55 y 114 coincidiendo con la mitad de la gestación, y el momento del parto, respectivamente. En cuanto al BCL-2, en el primer y último tercio de la preñez su marcaje esta disminuido induciendo entonces el proceso apoptótico, mediante diversas vías (2,3). En los diferentes estadios gestacionales el marcador BAX se encuentra regulado por la expresión del marcador antiapoptótico BCL-2. De acuerdo con trabajos previos, a los 30 días de gestación la expresión de receptores vía extrínseca FAS fue negativa, como así también la expresión de la proteína reguladora BCL-2 lo que nos permite afirmar que la apoptosis detectada por TUNEL, en dicho periodo, se debería entonces a la activación de la vía intrínseca por medio de BAX.

En conclusión, en cerdos la mayor remodelación celular placentaria, por apoptosis, que acontece a través de la vía intrínseca se observa a los 55 y a los 114 días de preñez.

BIBLIOGRAFÍA

- 1-Angosto, M. 2003. Anal. Real Acad. Nal. Farm.,69:36-64.
- 2-Cristofolini, A. et al. col 2006. Biocell, 31 (1) : 187.
- 3- Merkis, C. y col.2007 REDVET. 010107.
- 4- Selam, B. et al. 2001. Biol Reprod, 65,979-985.
- 5-Tayade, C. et al. 2006. J Immunol, 1:176(1):148-56.