

LAS PROTEINAS ASOCIADAS A LA GESTACION EN RUMIANTES

Juana María Garbayo
Servicio de Investigación Agroalimentaria, Zaragoza
e-mail:jmgarbayo@ aragob.es

1- Introducción

Las proteínas segregadas por la placenta, cuando son detectables en la circulación materna, pueden ser indicadores muy útiles de gestación y de bienestar fetal. Por ejemplo, en humanos la gestación se puede detectar por la presencia de una hormona placentaria, una gonadotropina coriónica (hCG), primero en sangre y poco después en orina. Desgraciadamente, la presencia de una CG durante la gestación es una característica única de primates y équidos y, en consecuencia, un test de gestación, simple y seguro, basado en CG no está disponible para otros mamíferos, incluyendo las, tan importantes económicamente, especies domésticas.

En 1982 Butler y col. describieron una proteína específica de la gestación, PSP-B, en vacuno. El método de aislamiento que utilizaron consistió en generar anticuerpos contra homogeneizados de placentas. El antisuero se clarificó de inmunoglobulinas no específicas de la gestación mediante absorción con tejidos y sangre procedente de animales no gestantes y este antisuero sirvió para monitorizar la purificación parcial de la PSP-B.

Un procedimiento similar emplearon Zoli y col. en 1991 para la purificación, también en vacuno, de una glicoproteína asociada a la gestación (Pregnancy-Associated Glycoprotein), PAG, ahora denominada PAG1. PAG1 es una glicoproteína de unos 67.000 Da. Efectivamente, ambas proteínas, PSP-B y PAG, se podían detectar en sangre y se pueden utilizar como diagnóstico de gestación (Beckers, 1999).

Estudios moleculares demostraron que ambas proteínas eran similares y similares a otra proteína, PSP-60, descrita en 1993 por Mialon y col.

2- Objetivo

El objetivo del presente trabajo es revisar los últimos conocimientos sobre estas proteínas de rumiantes, en el caso de cabras provenientes de trabajos realizados por la propia autora.

3- Estructura molecular

El cDNA (ADN complementario) de la PAG bovina y ovina se aisló mediante cribado inmunológico de librerías de expresión de tejido placentario de vaca y oveja con el antisuero generado por Zoli y col en 1991 (Xie y col. 1991). El cDNA constaba de unas 1.7 kilobases y codificaba polipéptidos de 380 y 382 aa en vaca y oveja, respectivamente. Ambos cDNAs poseían una posible secuencia señal (indicativo de que son proteínas extracelulares) de 15aa. Por comparación entre la secuencia de aa deducida del cDNA y la secuencia amino-terminal de la proteína se comprobó que la boPAG1 era procesada mediante la eliminación de un propéptido de 38aa. No obstante, lo más sorprendente fue la observación de que la PAG pertenecía a la familia de las proteasas aspárticas, a la que pertenece, por ejemplo, la enzima digestiva pepsina. Esta familia se caracteriza por la presencia en el centro activo de dos ácidos aspárticos, esenciales para

la catálisis. Sorprendentemente, la ovPAG1 y la boPAG1 poseen mutaciones en su centro activo que indicarían que no son enzimáticamente activas. No obstante, se ha demostrado que sí son capaces de unir péptidos (Green y col. 1998).

4- Localización

El tipo de placentación de rumiantes ungulados, como vacas, ovejas y cabras, es superficial, relativamente no invasivo y se denomina sinepiteliocorial. Este tipo de placenta se caracteriza por la presencia, en el epitelio coriónico, de células binucleadas (hasta un 20% en la placenta madura). Estas células migran del trofotodermo y se fusionan con las células del epitelio uterino para formar un sincitio y liberan a la circulación materna el contenido de sus gránulos de secreción. Pues bien, tanto el ARNm como la proteína han sido localizadas en las células binucleadas del trofoblasto, en los gránulos de secreción, colocalizadas con la hormona lactógeno placentario (Green y col., 1998). Este hecho explicaría su presencia en circulación materna.

5- Una familia en continuo crecimiento

A pesar de que en un principio se pensó que la PAG era un producto único, hoy está claro que, en rumiantes, hay posiblemente más de 100 genes (Xie y col., 1995) y que la mayoría de ellos se expresan. En este sentido, se han clonado un total de 21 cDNAs bovinos, 9 ovinos (Green y col., 2000) y 11 caprinos (Garbayo y col., 2000). No sólo se han identificado los ARNm sino que varias proteínas han sido purificadas (Green y col., 1999a; Garbayo y col., 1998) y antígenos inmunológicamente relacionados se han detectado en casi todos los rumiantes (Green y col., 1998). Algunas de estas proteínas no presentaban reacción inmunológica cruzada con la boPAG1, a pesar de pertenecer a la misma familia. Alguna de las nuevas PAG tienen conservada la secuencia en el centro activo, aunque estudios de modelado sugieren que tampoco se trata de enzimas activos. En este sentido ninguna de las moléculas purificadas demostraron actividad enzimática cuando se utilizó como sustrato la hemoglobina. Aunque este hecho no descarta que se trate de enzimas con gran especificidad de sustrato como ocurre con la renina, otra proteasa aspártica.

El aislamiento de más miembros de la familia ha permitido averiguar que aunque la expresión de muchas de las PAGs está restringida a las células binucleadas otras se localizan por todo el trofotodermo. Análisis filogenéticos son capaces de separar las PAGs en dos grupos principales que reflejan de manera exacta su lugar de expresión, restringida a las células binucleadas o por todo el trofotodermo (Green et al., 2000).

6- Moléculas relacionadas con las PAG fuera de los rumiantes

Moléculas relacionadas con las PAG de rumiantes se han identificado en el cerdo, otro miembro del orden Artiodáctila, así como en el caballo (Perisodáctila) y el gato (Carnívora). A diferencia de la mayoría de las PAG de rumiantes, la PAG equina no parece estar altamente glicosilada y su forma recombinante es capaz de hidrolizar la hemoglobina, siendo la primera PAG que se ha demostrado que es una proteasa (Green y col., 1999b). Otra diferencia importante con la PAG de rumiantes es que parece ser el producto de un solo gen.

Un ARNm similar al del caballo se ha clonado a partir de la placenta de gato.

7- Función

El hecho de encontrar las PAG en sangre sugirió que su diana era la madre y que eran hormonas placentarias, que actuaban quizás sobre el CL. Una hipótesis alternativa es que la PAG actúa localmente en la interfase placentaria y que su presencia en el suero no es intencionada sino una consecuencia de la naturaleza invasiva de las células binucleadas. Reforzando esta hipótesis de actuación local está el hecho de que algunas PAG se expresan predominantemente en las células mononucleadas. Más aún, se producen también en especies, como el cerdo, con una placentación epiteliocorial, dónde no hay erosión del epitelio uterino haciendo, por tanto, menos probable su presencia en sangre.

La mayoría, si no todas, las PAG son inactivas enzimáticamente, lo que sugiere que su función no es la de proteasas. En cualquier caso, muchas de ellas pueden ligar péptidos sin hidrolizarlos, hecho que cabría pensar refleja su función.

Las PAG expresadas en las células binucleadas están sometidas a selección darwiniana positiva (Hughes y col. 2000). Esto implica que la selección natural ha actuado para diversificar las PAG a nivel de aa, lo que a su vez sugiere que estas moléculas han sufrido una diversificación funcional. Es muy improbable que familias multigénicas, como la PAG, se mantengan sin una función, ya que se perderían o se acumularían como pseudogenes como consecuencia de la selección darwiniana purificadora. Con este argumento debemos asumir que no sólo las PAG individuales son funcionales sino que cada una de ellas tiene un papel ligeramente diferente. Entre las familias que están evolucionando rápidamente figuran las IgG, receptores de células T o los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad. En todos los casos la diversificación está unida a una mayor capacidad de unir ligandos específicos.

8- Conclusiones

Es muy tentador especular que la función de la PAG se relaciona con su capacidad de ligar péptidos. Es muy improbable que la PAG se trate de una mera curiosidad sin función, en vista de su larga supervivencia evolutiva y su abundante presencia en la interfase materno-fetal. Esta familia nos ofrece pues una gran oportunidad, tanto en investigación básica, como aplicada, habiendo sido ya demostrado su uso para diagnóstico de gestación en rumiantes.

9- Bibliografía

- Butler y col., 1982. Biol. Reprod. 26:925-933.
- Zoli y col., 1991. Biol. Reprod. 45:1-10.
- Beckers, 1999. Ann. Méd. Vét. 143 :253-263.
- Mialon y col., 1993. Reprod. Nutr. Dev. 33:269-282.
- Xie y col., 1991. PNAS USA 88:10247-10251.
- Green y col., 1998. Reviews of Reproduction 3:62-69.
- Xie y col., 1995. Gene 159:193-197.
- Green y col., 2000. Biol. Reprod. 62:1624-1631.
- Garbayo y col., 2000. Mol. Reprod. Dev. 57:311-322.
- Green y col., 1999a . Biol. Reprod. 62:1624-1631.
- Garbayo y col., 1998. Biol. Reprod. 58:109-115.
- Green y col., 1999b. Biol. Reprod. 60:1069-1077.
- Hughes y col., 2000, PNAS USA. 97:3319-3323.