

Expresión del receptor TGF- β RIII durante el desarrollo folicular en bovinos lecheros.

Matiller, V.^{1,2}; Belotti, E.M.¹, Stassi, A.F.^{1,2}; Rey, F.^{1,2}; Salvetti, N.R.^{1,2}; Ortega, H.H.^{1,2}.

¹Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina
vmatiller@fcv.unl.edu.ar

PICT 2008 - “Participación de la superfamilia del Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta) en la patogenia de desórdenes reproductivos de origen ovárico en bovinos”.

Los miembros de la superfamilia del Factor de crecimiento Transformante β (TGF- β) se expresan en los diferentes componentes del folículo ovárico, tanto en el ovocito como en las células somáticas que lo acompañan y cumplen funciones en múltiples aspectos del desarrollo folicular, incluyendo el reclutamiento de los folículos primordiales, la proliferación y apoptosis de las células de la granulosa, esteroidogénesis, expresión de receptores para gonadotrofinas, maduración del ovocito, ovulación, luteinización y formación del cuerpo lúteo (1). Además, se ha determinado claramente que la progresión a través de los sucesivos estadios de desarrollo folicular requiere de una comunicación bidireccional entre el ovocito y las células de la granulosa así como también entre estas últimas y las células de la teca; y que en dicho intercambio de información participan estas proteínas (2).

La mayor parte de los miembros de la superfamilia de TGF- β realizan sus acciones a través de la unión a dos tipos de receptores de membrana (designados como tipo I y tipo II), formando complejos heterotetraméricos. En los mamíferos existen 7 subtipos de receptores de tipo I, y 5 subtipos de tipo II asociados con la transducción de la señal de los ligandos de la superfamilia de TGF- β . En adición, existe un grupo de moléculas de superficie celular, que incluye a β -glicanos (conocidos como receptores TGF- β tipo III) que actúan como proteínas de unión o correceptores para ciertos ligandos de la superfamilia de TGF- β (3). Estos, son necesarios para la unión de TGF- β II con TGF- β RII, su receptor tipo II, y para la unión de Inhibina también a sus correspondientes receptores tipo II.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la expresión del β -glicano en células ováricas en diferentes categorías foliculares del ovario bovino.

En el desarrollo se utilizaron hembras bovinas de la raza Holando Argentino, seleccionadas fuera del período de lactancia de establecimientos locales de la zona. Las mismas fueron inspeccionadas antes del comienzo de la experiencia a fin de confirmar la normalidad en su tracto reproductor y la regularidad de sus ciclos estrales. Los animales fueron sometidos al protocolo de sincronización del ciclo estral Ovsynch (Pursley y col., 1995) de la siguiente manera: se administraron 100 μ g de un análogo sintético de GnRH (2,5 ml IM de acetato de buserelina, Receptal®, Intervet, Argentina) el día -9, el día -2 se administraron 150 μ g de prostaglandina (PG) (D+Cloprostenol, Ciclar, Zoovet®) y el día 0 se realizó la última administración de 100 μ g de GnRH. La ovulación fue confirmada mediante ultrasonografía (Sirois y Fortune, 1998) luego de la última inyección de GnRH y fue designada como día 1 del ciclo estral (figura 13). En proestro los animales fueron sometidos a la ovariectomía y sobre las muestras de ovario se realizó la técnica de inmunohistoquímica indirecta para la determinación de la molécula citada, siguiendo el protocolo descrito previamente por Salvetti y col. (2010). La cuantificación se realizó mediante análisis digital de imágenes (% de área marcada). Se evaluaron las capas de la granulosa y de la teca en folículos en crecimiento y atrésicos de ambos grupos y folículos quísticos. Se utilizó la técnica de Western Blot para la determinación de la especificidad del anticuerpo utilizado. Los datos obtenidos fueron evaluados mediante el programa estadístico SPSS 11.0.1 para Windows.

Los resultados mostraron expresión para TGF- β RIII en el citoplasma en categorías foliculares estudiadas y tanto en las células de la granulosa como en las de la teca. La mayor inmunomarcación se observó en la granulosa de folículos secundarios, presentando diferencias significativas ($p < 0,05$) con la misma capa de células de los folículos terciarios. Los folículos primarios mostraron una marcación similar a la observada en la teca de los folículos terciarios.

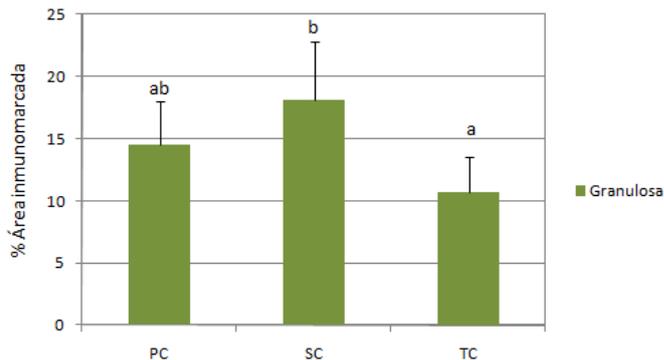


Figura: Porcentaje de área inmunomarcada para TGF- β RIII de varios tipos foliculares (P: Primarios, S: Secundarios, T: Terciarios) de animales ovariectomizados en proestro. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Concluimos que la expresión de este importante receptor se encuentra aumentada en los folículos que no presentan anro en relación a los folículos terciario antrales. Dada la complejidad y la naturaleza multifacética de la foliculogénesis ovárica, la tarea de desentrañar las funciones del sistema endocrino y las vías de señalización intra-ováricas que regulan este proceso esencial en condiciones fisiológicas es de suma importancia y brinda datos aplicables a la comprensión de situaciones patológicas de origen ovárico así como al diseño de protocolos y medidas terapéuticas efectivas.

Bibliografía:

- ¹ Sisco, B.; Pfeffer, P.L. (2007) Expression of activin pathway genes in granulosa cells of dominant and subordinate bovine follicles. *Theriogenology*, 68, 29-37.
- ² Webb, R.; Garnsworthy, P.C.; Campbell, B.K.; Hunter, M.G. (2007) Intra-ovarian regulation of follicular development and oocyte competence in farm animals. *Theriogenology*, 68, 22-29.
- ³ Lewis, K.A.; Gray, P.C.; Blount, A.L.; MacConell, L.A.; Wiater, E.; Bilezikjian, L.M.; Vale, W. (2000) Betaglycan binds inhibin and can mediate functional antagonism of activin signalling. *Nature*, 404, 411-414.
- ⁴ Salvetti NR, Stangaferro ML, Palomar MM, Alfaro NS, Rey F, Gimeno, EJ, Ortega HH (2010) Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH. *Animal Reproduction Science* 122(1-2), 98-110