

La Caveolina-1 (Cav-1) es una proteína crucial en la formación de las caveolas, microdominios rígidos de membrana ricos en colesterol y esfingolípidos. Está involucrada en muchos procesos celulares como la diferenciación celular, donde regularía negativamente del ciclo celular, retardando la mitosis con el fin de detener la proliferación y conducir a la célula a su diferenciación. Contrariamente a lo que ocurre en otros epitelios, la diferenciación del trofoblasto se asocia con una reducción del número de caveolas, acompañado con una disminución de la expresión de Cav-1 y una modificación la composición de fosfolípidos de la membrana plasmática del sincitiotrofoblasto (hST) resultantes de la fusión con las células de citotrofoblasto. Este proceso es esencial para el mantenimiento de un embarazo exitoso y alteraciones se asocian a condiciones patológicas tales como la preeclampsia. En placentas preeclámpticas (PE), se encontraron alteraciones en la composición lipídica de la membrana de hST y expresiones anormales de proteínas de transporte que alterarían las funciones de la placenta. Sin embargo, si estos cambios en la composición lipídica de la membrana del hST pueden afectar la expresión de Cav-1 en placentas preeclámpticas se desconocen.

Se estudió la expresión de Cav-1 en placentas normales (PN) (n=8) y PE (n = 8) por RT-PCR, Western blot e inmunohistoquímica. La expresión de Cav-1 también se evaluó en membranas resistentes a detergente (DRM) obtenidas por centrifugación en gradiente de sacarosa a partir de vesículas apicales y basales de PE y PN. Para el estudio de los fosfolípidos de membrana se extrajeron los mismos por el método de Bligh-Dyer, se separaron por cromatografía en capa delgada y se cuantificaron por el método de Fiske-Subarow. El colesterol se determinó mediante un kit comercial. La fluidez de membrana se evaluó por resonancia paramagnética electrónica. Las especies moleculares de esfingomielina (SM) se analizaron y cuantificaron por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas

Estudiar la expresión de Cav-1 en PE y analizar la composición lipídica del hST de estas placentas que pudieran estar asociadas cambios en la expresión de esta proteína.

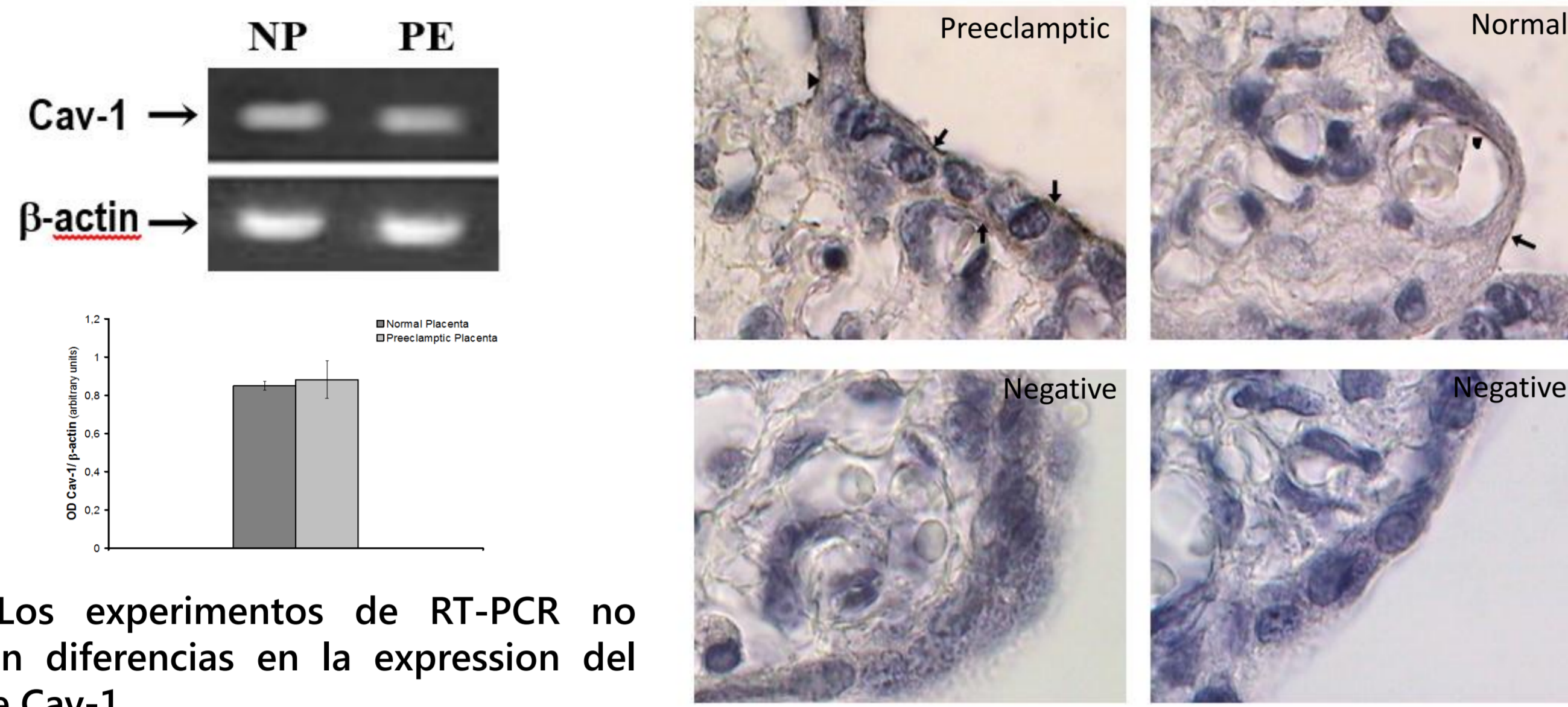


Fig. 1: Los experimentos de RT-PCR no mostraron diferencias en la expresión del RNAm de Cav-1

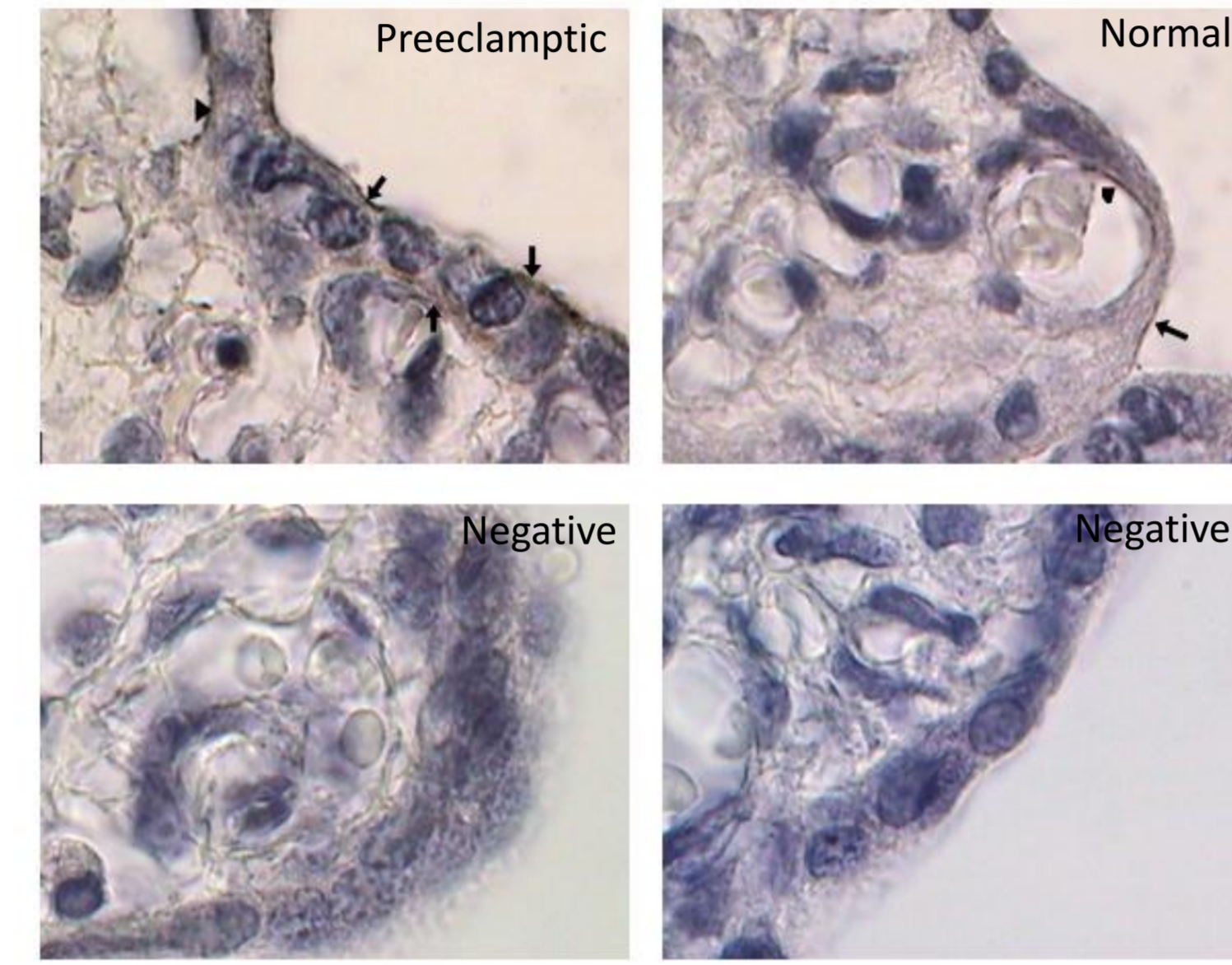


Fig 2: En placentas normales, la caveolina-1 se localizo en la membrana apical del sincitiotrofoblasto y el endotelio. Sin embargo en placentas preeclámpticas la Caveolina-1 fue indetectable

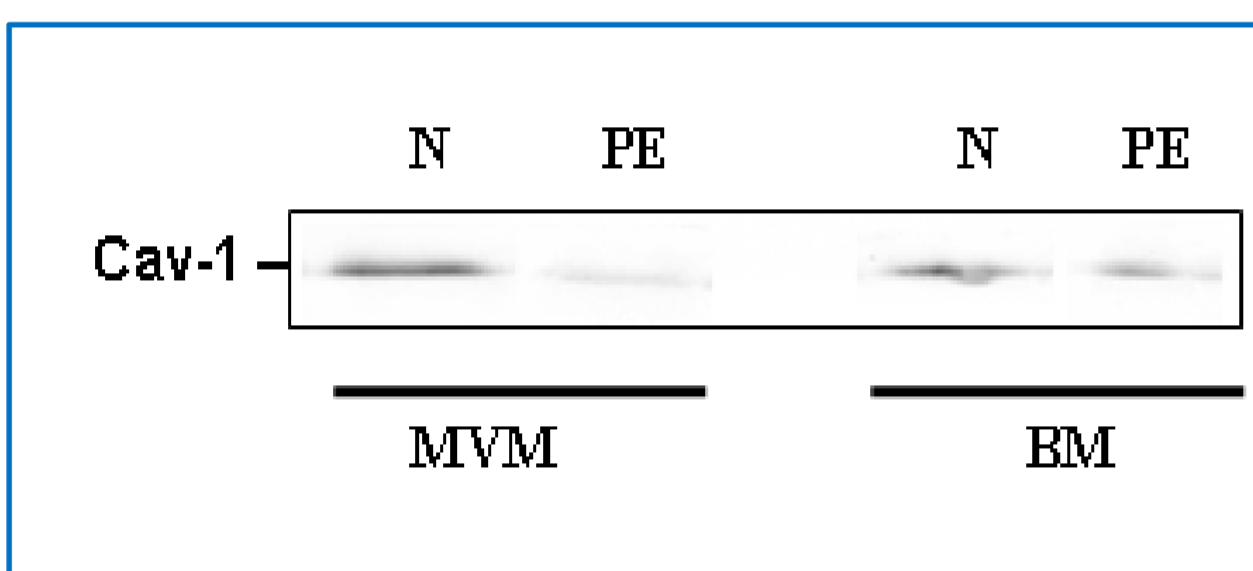


Fig. 3: Western blots de la of fracción 2 de los DRM's mostraron un descenso significativo de caveolina-1 en la membrana apical de placentas preeclámpticas comparadas con las normales.

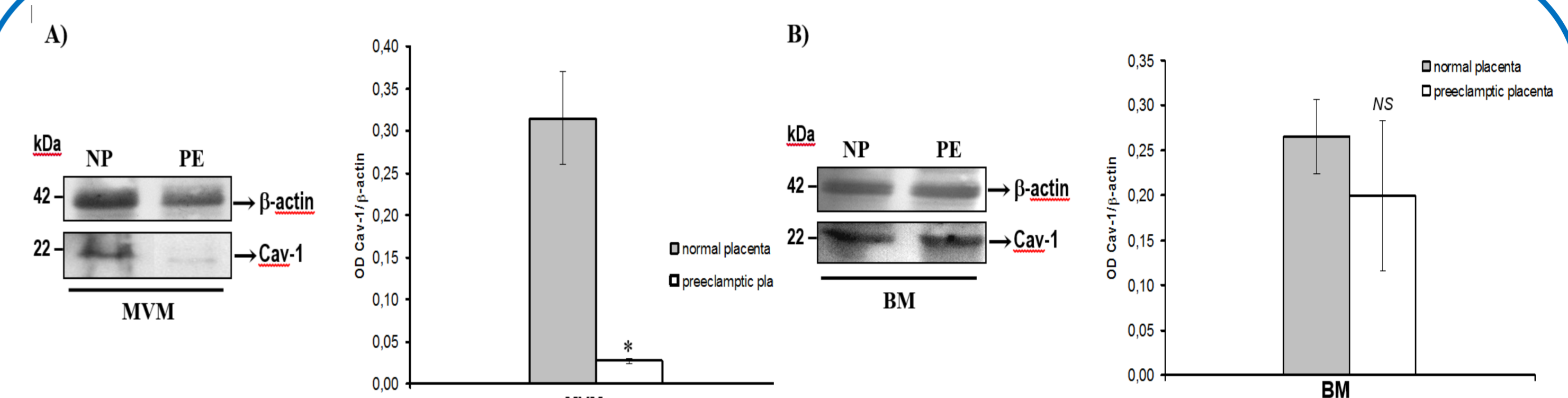


Fig. 4: WB de Caveolina-1. A) se observó un descenso de la expresión de Caveolina-1 en Placenta preeclámpticas vs Placenta normal en membranas apicales. B) En membranas basales la expresión de la proteína fue similar en las placentas normales y preeclámpticas.

Tabla 1: Características Clínicas de las mujeres normales y con preeclampsia

	TERM CONTROL	SEVERE PREECLAMPSIA
Number of pregnant women	24	24
Maternal age, yr	24.6 ± 5.1	26.7 ± 6.3
Gestational age, wks from LMP	38.9 ± 1.5	35.1 ± 3.1
Body Mass Index (BMI), kg/m ²	25.3	24.4
Proteinuria	negative	+++
Mean blood pressure, mmHg		
Systolic	110.0 ± 3.9*	160.0 ± 4.5*
Diastolic	63.1 ± 2.3**	111.0 ± 2.0**
Birth weight, g	3320 ± 540	2580 ± 1130

*P < 0.01
**P < 0.001
Values are means ± Standard Deviation
LMP: last menstrual period.

Tabla 2: Cantidad relativa de colesterol en Placentas normales y preeclámpticas. No se observaron diferencias significativas

	NORMOTENSIVE PLACENTA	PREECLAMPTIC PLACENTA
RELATIVE CHOLESTEROL AMOUNT, µg cholesterol/µg total protein		
MVM	0.040 ± 0.009	0.043 ± 0.005
BM	0.031 ± 0.004	0.040 ± 0.005

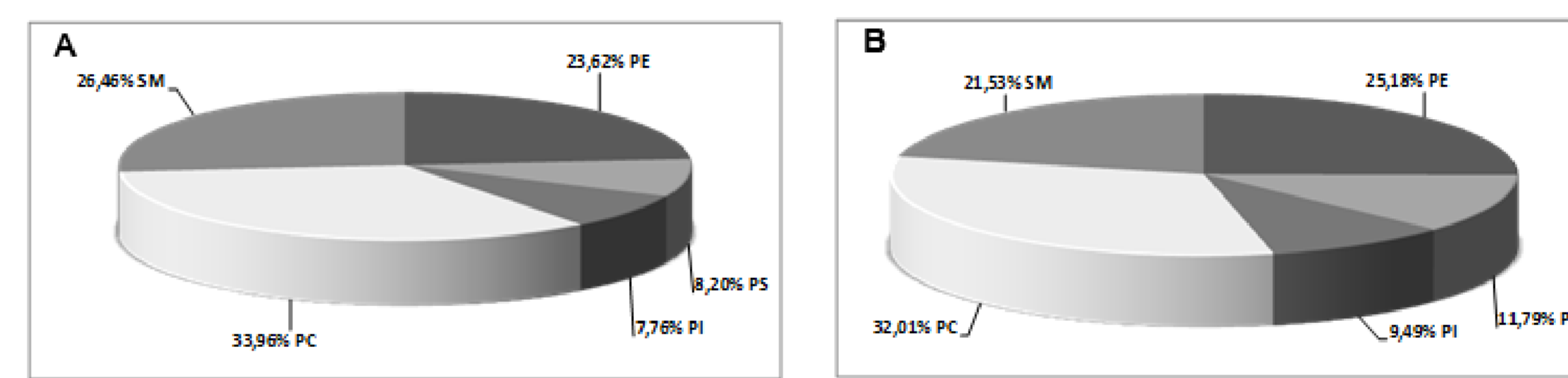
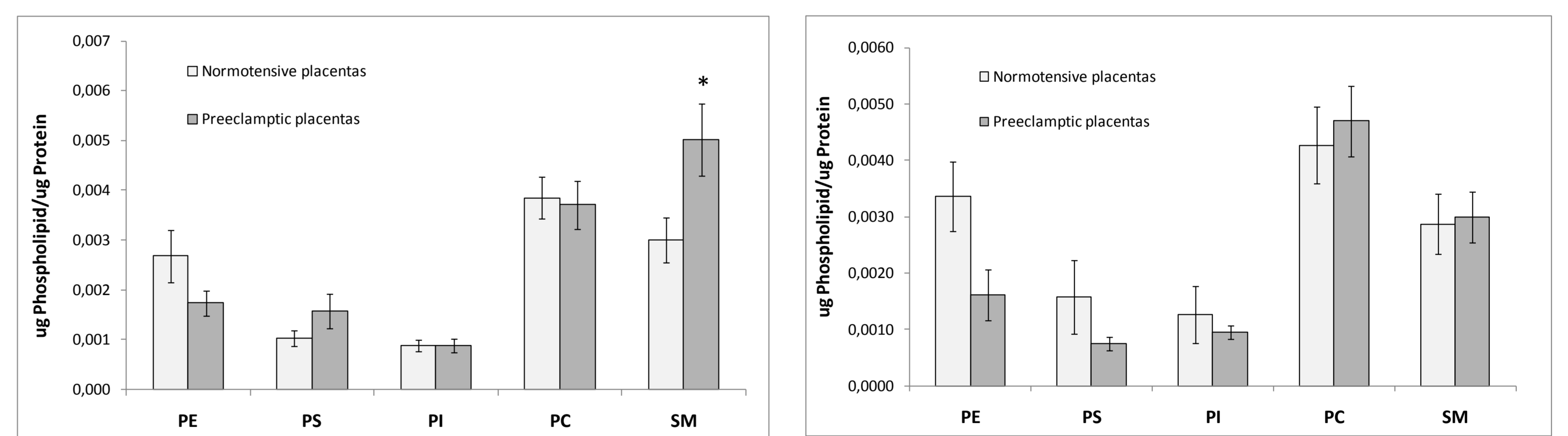


Fig. 5: Composición fosfolipídica de las membranas apicales y basales de placentas Normales y Preeclámpticas. En placentas preeclámpticas, se observó un incremento de SM en las membranas apicales de sincitiotrofoblasto. * p < 0,05, n=20



A

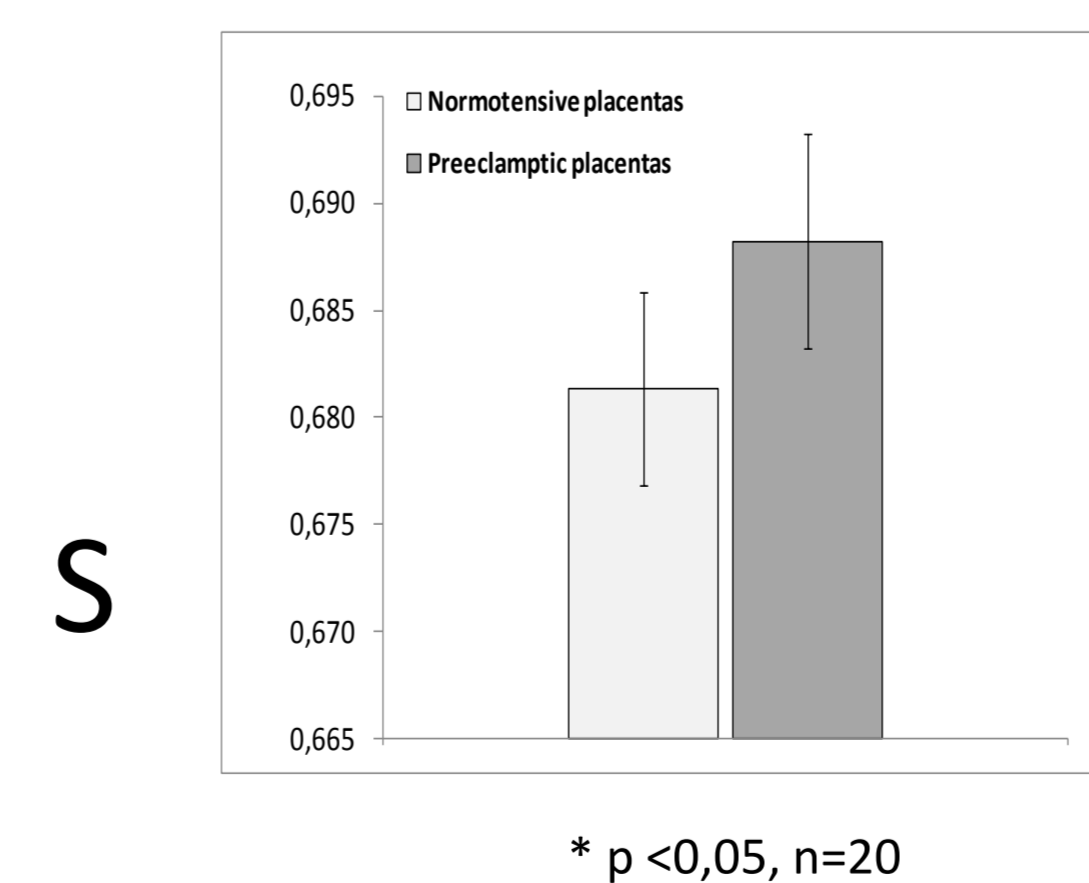
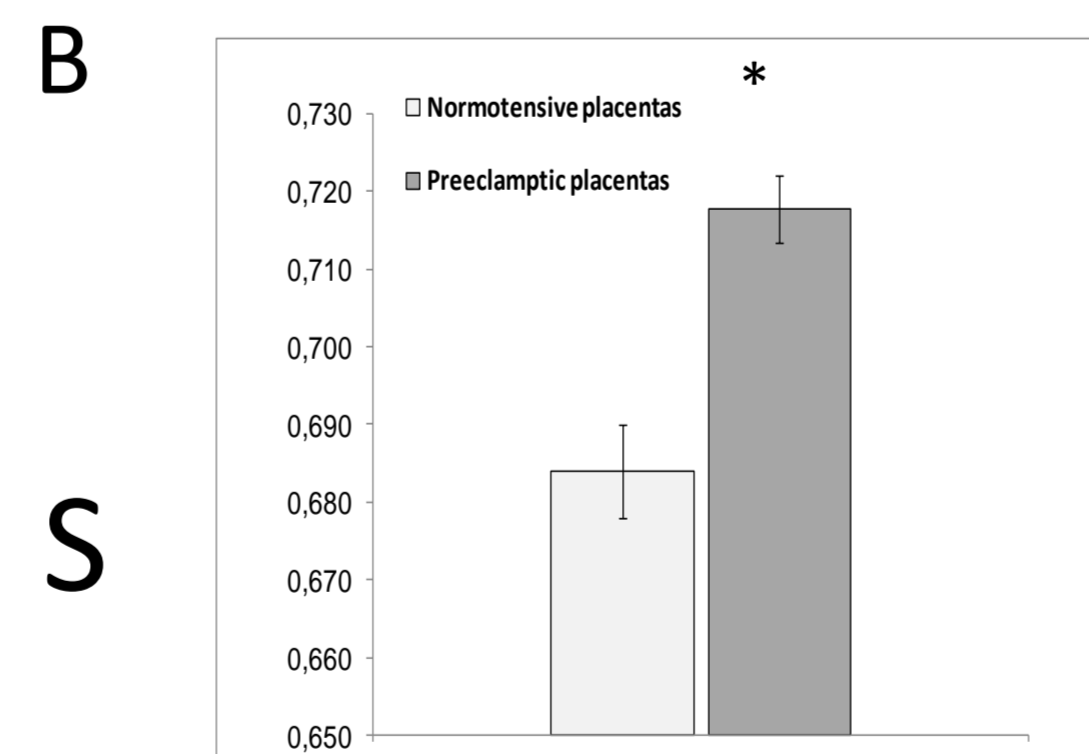
	PC (mg/mg of protein)	SM (mg/mg of protein)	PC/SM
MVM normal placenta	0.004 ± 0.0004	0.003 ± 0.0004	1.33
MVM Preeclamptic Placenta	0.004 ± 0.0005	0.005 ± 0.0007	0.80
BM normal placenta	0.043 ± 0.001	0.003 ± 0.001	1.43
BM Preeclamptic Placenta	0.005 ± 0.005	0.003 ± 0.0005	1.67

S

	CHOLESTEROL (mg/mg of protein)	PHOSPHOLIPID (mg/mg of protein)	PLT/CHOL
MVM normal placenta	0.04 ± 0.009	0.002 ± 0.0003	0.05
MVM Preeclamptic Placenta	0.043 ± 0.005	0.0014 ± 0.0002	0.03
BM normal placenta	0.031 ± 0.005	0.002 ± 0.001	0.06
BM Preeclamptic Placenta	0.04 ± 0.004	0.002 ± 0.0007	0.05

* P < 0.05, n=15

Fig 6: Analisis de la Fluidez de membrana A) La tabla muestra la relacion PC/SM y PLt/Chol. B) Ensayo EPR. En todos los casos se observó una disminución de la fluidez de las membranas apicales de Placentas preeclámpticas.



* p < 0,05, n=20

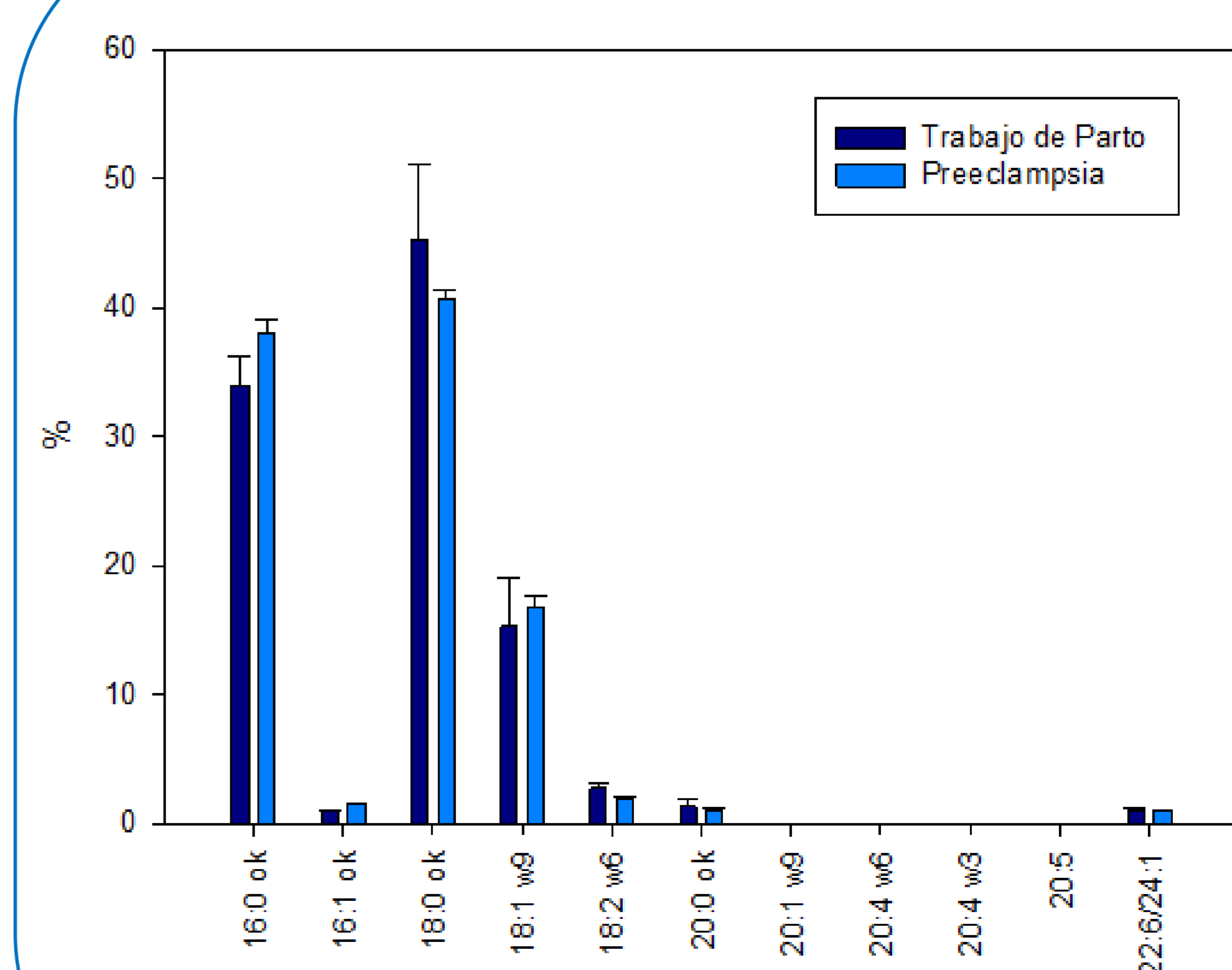


Fig 7: Composición de los acidos grasos de la Esfingomielina de las membranas apicales de placentas preeclámptica y normal. Se encontraron principalmente las especies moleculares 16 y 18 aunque no se observaron diferencias significativas en ambas condiciones.

Nuestros resultados muestran que la expresión de Cav-1 es casi indetectable en PE. En esta placentas se observó que en la membrana apical del hST hay un incremento en el contenido de SM, con ácidos grasos insaturados de SM volviéndola más rígida. Esto crearía un entorno desfavorable para la formación de caveolas y la inserción de Cav-1. Aunque en la PN, la reducción de la Cav-1 con el avance de la gestación es un proceso fisiológico causado por la fusión celular, en PE la marcada disminución de esta proteína podría estar asociada a fallas en el proceso de sincialización.