LA PRODUCCIÓN DE INTERFERÓN GAMMA (IFN-γ) SE ASOCIA A UNA MENOR CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROTEÍNA ASOCIADA A LA GESTACIÓN-1 Y -2 (PAG-1 Y PAG-2) EN VACAS LECHERAS GESTANTES CRÓNICAMENTE INFECTADAS POR *NEOSPORA CANINUM*

Serrano-Pérez[1], B., García-Ispierto[1], I., Nogareda[1], C., Almería[2], S., y López-Gatius[1], F.
[1]Dpto. Producción Animal, Universidad de Lleida, Lleida, España. [2]Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA), UAB-IRTA, Bellaterra, Barcelona, España. bserrano@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito coccidio intracelular que causa aborto en ganado vacuno lechero a nivel mundial (Dubey y Schares, 2011). En el noreste español, el riesgo de aborto en vacas seropositivas es 12-18 veces comparado con el resto de animales, con tasas de abortos de hasta 44% (López-Gatius et al., 2004). En trabajos previos, se ha demostrado que la inseminación de vacas frisonas seropositivas a *N. caninum* con semen de toros de razas cárnicas reduce el riesgo de aborto (López-Gatius, 2005), e incrementa los valores de las proteínas asociadas a la gestación (PAG) respecto al uso de semen frisón (Serrano et al., 2009). En rumiantes, las PAGs se han clasificado en dos grandes grupos: el grupo 1, el más abundante, que se expresa en las células binucleadas del trofectodermo, y el grupo 2 que se expresa de manera más uniforme por todo el trofectodermo (Green et al., 2000). Su función se desconoce, aunque en vacas seropositivas a *N. caninum* parecen ser un indicador de aborto (López-Gatius et al., 2007a, Garcia-Ispierto et al., 2012). Por otra parte, la producción de interferón gamma (IFN-γ) confiere protección contra el aborto y se asocia con una menor respuesta humoral (López-Gatius et al., 2007b; Almería et al., 2009). El objetivo de este estudio fue investigar la interacción de IFN-γ y las Proteínas Asociadas a la Gestación de grupo 1 (PAG-1), y grupo 2 (PAG-2) en vacas lecheras crónicamente infectadas por *N. caninum*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en una granja comercial de vacas de alta producción lechera situada en la franja Lleida-Huesca, con una historia conocida de abortos asociados a *N. caninum*. Se incluyeron 43 vacas gestantes crónicamente infectadas por *N. caninum* que no abortaron, en condiciones óptimas de manejo y alimentación. Las vacas se inseminaron artificialmente con dosis seminales de toros de aptitud cárnica de fertilidad probada. Los diagnósticos de gestación se realizaron el día 28-34 tras la inseminación mediante ecografía transrectal, y los días 90, 120, 150, 180 mediante palpación rectal. No se incluyeron gestaciones gemelares en el estudio. De cada animal se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea en tubos con EDTA (10 ml) (BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, GB) los días (±4 días) 40, 90, 120, 150, 180 y 210 de gestación. La sangre se centrifugó inmediatamente (1500 g, 10 min), y el plasma recogido se conservó a -80ºC. La concentración plasmática de PAG-1 y PAG-2 se determinó mediante radioinmunoensayo (RIA) (García-Ispierto et al., 2012). La determinación de IFN-γ se realizó mediante ELISA con un kit comercial (Bovine IFN-γ EASIA, Biosource, Nivelles, Bélgica) (López-Gatius et al., 2007b). La seropositividad frente a *N. caninum* se determinó mediante análisis serológicos anuales con un kit ELISA comercial (CIVTEST® anti-*Neospora*; Hipra, Girona, España). De cada animal se tomaron datos de la concentración plasmática de IFN-γ, PAG-1 y PAG-2 los días 40, 90, 120, 150, 180 y 210 de gestación. Las vacas se clasificaron como productoras (presencia de IFN-γ en al menos una muestra durante el periodo de estudio) o no productoras de IFN-γ. Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de medidas repetidas GLM ANOVA con el paquete estadístico SPSS v.17 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). Los valores medios se expresaron como la media ± desviación estándar (SD).

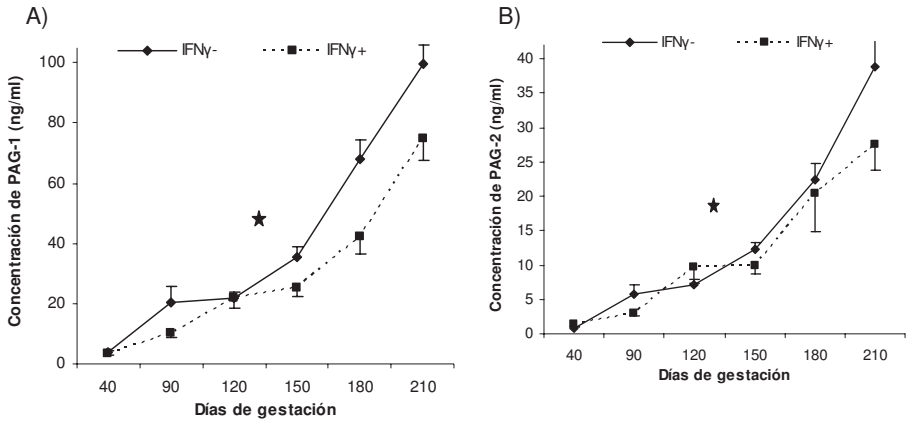
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La lactación media de las vacas incluidas en el estudio fue de 2,4 ± 1,5, con una producción lechera a día 50 de lactación de 43,0 ± 8,4 kg. El 21% de los animales presentaron al menos una muestra de plasma positiva a IFN-γ durante el estudio. El día de gestación y la producción de IFN-γ afectaron significativamente las concentraciones plasmáticas de PAG-1 y PAG-2. Los niveles de PAG-1 y PAG-2 incrementaron con el tiempo de gestación (P<0,001). Las vacas no productoras de IFN-γ presentaron niveles significativamente superiores de PAG-1 durante el periodo de estudio (P=0,025, Fig 1A; efecto intersujetos) y un mayor incremento de PAG-1 y PAG-2 (P=0,007, Fig. 1A y P=0,038, Fig. 1B, respectivamente; efecto intrasujetos) el día 120 de gestación, respecto a las vacas productoras de IFN-γ. El IFN-γ se asocia a la respuesta inmune celular (respuesta Th1), y ejerce función protectora ante infecciones por protozoos aunque su producción continuada puede ser potencialmente dañina en hembras gestantes (Almería et al., 2009). La función de las PAGs parece estar relacionada con el mantenimiento de la gestación mediante la inmunosupresión materna a nivel local (Klisch et al., 2008, Egen et al., 2009). La gestación implica el equilibrio de multitud de procesos fisiológicos. De este modo, la producción de IFN-γ en vacas crónicamente infectadas por *N. caninum* no abortadas afectaría la secreción de PAGs, principalmente secretadas por las células binucleadas, posiblemente por procesos inflamatorios asociados a esta molécula (López-Gatius et al., 2009). En conclusión, los animales crónicamente infectados por *N. caninum* productores de IFN-γ presentaron una menor concentración plasmática de PAG-1 durante la gestación y un menor incremento de PAG-1 y PAG-2 el día 120 de gestación respecto a las no productoras de IFN-γ.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Almería S, Nogareda C, Santolaria P, Garcia-Ispierto I, Yániz JL, López-Gatius F. 2009. Vet Immunol Immunopathol. 130:35-42. ● Dubey JP, Schares G. 2011. Vet Parasitol, 180:90-108. ● Egen TE, Ealy AD, Landon LA, Roberts RM, Green JA. 2009. Animal. 3:850-7. ● Ganguly B. and Prasad S. 2012. J Anim Sci Biotechnol. 3:13. ● García-Ispierto I, Almería S, Serrano B, de Sousa N, Beckers J, López-Gatius F. 2012. Reprod Domest Anim. (en prensa). ● Green JA, Xie S, Quan X, Bao B, Gan X, Mathialagan N, Beckers JF, Roberts RM. 2000. Biol. Reprod. 62: 1624-1631. ● Klisch K, Jeanrond E, Pang PC, Pich A, Schuler G, Dantzer V, Kowalewski MP, Dell A. 2008. Glycobiology 18:42-52. ● López-Gatius F, Pabón M, Almería S, 2004. Theriogenology 62, 606–613. ● López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Garbayo JM, Almería S. 2005. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 52:88-92. ● Lopez-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Yániz JL, Almería S, Ayad A, de Sousa NM, Beckers JF. 2007a. Theriogenology 67:502-508. ● Lopez-Gatius F, Almeria S, Donofrio G, Nogareda C, Garcia-Ispierto I, Bech-Sabat G, Santolaria P, Yániz JL, Pabon M, de Sousa NM, Beckers JF. 2007b. Theriogenology 68:1067-1073. ● López-Gatius F, Almería S, Yániz JL, Santolaria P, Nogareda C, Mezo M, Gonzalez-Warleta, M, Castro-Hermida, J. A, de Sousa NM, Beckers JF. 2009. Pregnancy Protein Research, Nova Science Publishers 123-134 ● Serrano B, López-Gatius F, Santolaria P, Almería S, García-Ispierto I, Bech-Sabat G, Sulon J, de Sousa NM, Beckers JF, Yániz JL. 2009. Reprod Domest Anim. 44:600 –5.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MICINN (AGL2012-39830-C02-01 y AGL2012-39830-C02-02).



.

Figura 1. *Efecto de la producción de interferón gamma (IFN-γ) (IFNγ-, n=34 vs. IFNγ+, n=9) sobre la concentración plasmática de proteína asociada a la gestación -1 (PAG-1) (A) y -2 (PAG-2) (B) en vacas de leche*

GAMMA INTERFERON PRODUCTION IS RELATED TO LOWER PREGNANCY ASSOCIATED GLYCOPROTEIN-1 AND -2 (PAG-1 AND PAG-2) CONCENTRATIONS IN NON-ABORTING CHRONICALLY *NEOSPORA CANINUM*-INFECTED DAIRY COWS

ABSTRACT: The objective of this work was to study the interaction between gamma interferon (IFN-γ) production and plasma pregnancy-associated glycoprotein-1 (PAG-1) and -2 (PAG-2) concentrations throughout pregnancy in non-aborting chronically *Neospora caninum*-infected cows. Gamma interferon was detected at some point along the pregnancy in 9 (21%) of the 43 *Neospor*a-seropositive cows. General lineal models (GLM) repeated measures ANOVA revealed significant effect of IFN-γ production on plasma PAG-1 and PAG-2. IFN-γ production was related to lower PAG-1 concentrations throughout gestation (P<0.05), respect to cows not producing IFN-γ. Moreover, cows not producing IFN-γ showed significantly increased PAG-1 and PAG-2 concentrations at Day 120 of gestation (P<0.01 and P<0.05, respectively), respect to cows producing IFN-γ. These results indicate that IFN- γ production has an effect on placental PAG secretion in non aborting *Neospora*-infected cows.

Keywords: *Neospora caninum,* gamma interferon, pregnancy associated glycoproteins, dairy cows.