



RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA (RE α) EN VAGINA DE OVEJAS EN ANESTRO ESTACIONAL INDUCIDAS A OVULAR

S. Acuña*, C. Tasende, C. López, E. G. Garófalo
 Área Bioquímica, Facultad de Veterinaria; Montevideo-Uruguay
 *saap22@ adinet.com.uy

RESUMEN

Se investigó el contenido de RE α en la vagina de ovejas en anestro estacional inducidas a ovular con GnRH o con Progesterona y GnRH. Los RE α se determinaron por inmunohistoquímica en el Epitelio y el Estroma de vagina de ovejas sacrificadas los días 1 o 5 del bolo de GnRH. Se encontró efecto del tratamiento pero no del tipo celular ni del día sobre el inmunomarcado a RE α . Al día 1, el porcentaje de células RE α positivas en el Epitelio fue similar en ambos grupos tratados, mientras que en el Estroma fue mayor en el grupo tratado con GnRH. Al día 5, el porcentaje de células RE α positivas en el Epitelio y Estroma, fue mayor en el grupo tratado con GnRH que en el grupo tratado con P+GnRH. Estos resultados demuestran que el tratamiento con GnRH sola a ovejas en anestro induce una mayor expresión del RE α en vagina que cuando se administra precedida de Progesterona.

INTRODUCCIÓN

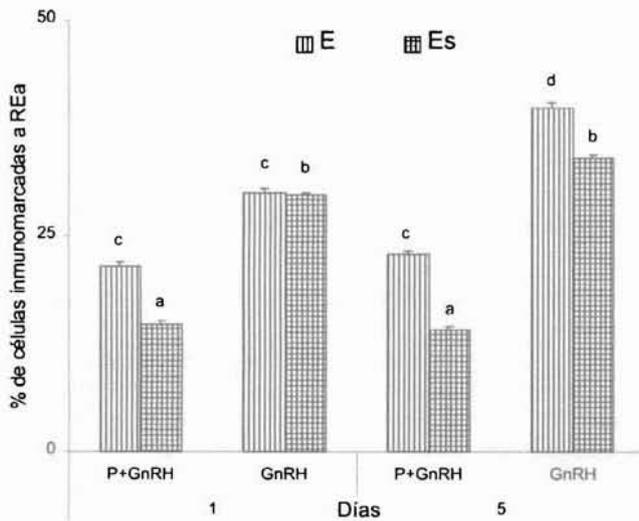
Las variaciones de los niveles de estrógenos y progesterona (P) circulantes durante el ciclo estral, inducen a través de sus receptores nucleares (RE y RP), cambios moleculares y morfológicos en la vagina (1,2). En la vagina de rata y ratona, se ha demostrado la participación del RE α en el crecimiento, cornificación y estratificación normal del epitelio (3,4), mientras que la ausencia de RE α produjo infertilidad (2). En la vagina ovina, se demostró la presencia del RE α durante el ciclo estral en estación reproductiva, siendo el inmunomarcado a RE α mayor al esto que durante la fase luteal (5). Por otra parte, los tratamientos hormonales con GnRH precedidos o no de P, son ampliamente utilizados para inducir la ovulación en ovejas en estación no reproductiva (6). Sin embargo, han sido escasamente analizadas las alteraciones endócrino-moleculares que dichos tratamientos podrían provocar en el tracto reproductivo. El objetivo de este trabajo fue investigar distribución de RE α en el Epitelio y el Estroma de la vagina de ovejas en anestro estacional inducidas tratadas con GnRH o P+GnRH.

MATERIALES Y MÉTODOS

Veintidós ovejas Corriedale adultas en anestro estacional fueron divididas en dos grupos (P+GnRH, n=11 y GnRH, n=11). El grupo P+GnRH fue tratado con P (CIDR, por 10 días), e inmediatamente después de retirada la P, se administró GnRH (Receptal), i/v cada 2 h durante 16 h y a las 18 h un bolo de GnRH (día 0). El grupo GnRH tuvo igual tratamiento con GnRH pero sin P previa (7). Al día 1, seis animales de cada grupo fueron sacrificados y el resto fue sacrificado al día 5. Muestras de vagina fueron disecadas, congeladas en N₂ líquido y almacenadas a -80°C, hasta la determinación de los RE α por inmunohistoquímica (5). El inmunomarcado a RE α fue evaluado por dos observadores, en el Epitelio y Estroma, de cada muestra y expresado como porcentaje de células inmunomarcadas (5). Los resultados fueron analizados por ANOVA, incluyendo: efecto de observador, de tratamiento, de tipo celular y de día. No hubo diferencias de observador en la evaluación. La concentración de P circulante al día 1 fue basal y similar en ambos grupos, mientras que al día 5, fue mayor en el grupo P+GnRH (5.7 ± 1.0 y 2.5 ± 0.6 nmol/L, P+GnRH y GnRH respectivamente, $p < 0.05$) (7).

RESULTADOS

Se detectó inmunomarcado a RE α en los núcleos de ambos tipos celulares (Epitelio y Estroma) de la vagina de todas las ovejas, los dos días estudiados. Se encontró efecto del tratamiento ($p < 0.001$), pero no del tipo celular ni del día en el inmunomarcado a RE α . El porcentaje de células RE α positivas en el Epitelio y el Estroma fue similar para cada grupo y día. Al día 1, el porcentaje de células RE α positivas en el Epitelio fue similar en ambos grupos tratados, mientras que en el Estroma fue mayor en el grupo tratado con GnRH. Al día 5, el porcentaje de células RE α positivas en el Epitelio y el Estroma, fue mayor en el grupo tratado con GnRH que en el grupo tratado con P+GnRH. (Gráfico).



Porcentaje de células inmunomarcadas a REa en el Epitelio (E) y el Estroma (Es) en vagina de ovejas en anestro estacional, tratadas con P+GnRH y sacrificadas al día 1 (n=6) o al día 5 (n=5) del bolo de GnRH o tratadas con GnRH y sacrificadas al día 1 (n=6) o al día 5 (n=5) del bolo de GnRH. Para el mismo tipo celular, mismo día y diferente tratamiento, barras con letras diferentes, $p < 0.05$.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se demostró la presencia y una regulación diferencial de REa en ambos tipos celulares de la vagina en ovejas en anestro tratadas con GnRH o P+GnRH. El menor porcentaje de células REa positivas en el Estroma, del grupo P+GnRH al día 1, podría deberse a que el efecto inhibitorio de P previa sobre RE, se ejerce en forma diferencial entre el Estroma y el Epitelio. Mientras que, al día 5, el efecto inhibitorio de los mayores niveles de P circulantes en el grupo P+GnRH, afecta ambos tipos celulares. En ambos grupos tratados el inmunomarcado a REa fue similar alrededor del estro y en la fase luteal temprana (día 1 vs 5), contrariamente a lo hallado en vagina de ovejas ciclando en estación reproductiva, en donde se encontró mayor inmunomarcado a REa alrededor del estro que en fase luteal temprana (5). Además, durante el ciclo estral, el inmunomarcado a REa fue mayor en el epitelio que en estroma, mientras que en ovejas en anestro tratadas no hubo diferencias entre estos tipos celulares para cada grupo tratado. Sin embargo, en fase luteal temprana inducida se evidencia un claro estímulo de la expresión de REa en ambos tipos celulares cuando se administra GnRH sola. Se desconoce la significación biológica de estos hallazgos en ovinos, pero desbalances en los niveles circulantes de hormonas esteroides y sus proteínas receptoras, producidos por los tratamientos hormonales fuera de estación reproductiva, podrían afectar el ambiente y la activi-

dad contráctil de la vagina, modificando la cantidad y calidad de los espermatozoides que llegan al oviducto. Además, la mayor expresión de REa en el Estroma, en el grupo tratado con GnRH, sugiere que la GnRH cuando se administra sola, induce una mayor expresión de REa en éste tipo celular, que se mantiene incluso en la fase luteal temprana. En conclusión, los resultados demuestran que los tratamientos para inducir la ovulación en ovejas en anestro estacional con GnRH o con P+GnRH, no reproducen los perfiles de REa vaginales durante el ciclo estral en estación reproductiva.

AGRADECIMIENTOS

Financiación CSIC, CIDEA - Facultad de Veterinaria PEDECIBA.

SUMMARY

The ERA content of the vagina in seasonal anestrus ewes induced to ovulate with GnRH or with Progesterone plus GnRH was investigated. The ERA was determined by immunohistochemistry in the vaginal epithelium and stroma of ewes sacrificed 1 or 5 days after the GnRH bolus. There was a significant effect of treatment on the ERA immunostaining, but no effect of cellular type and day was found. On day 1, the immunostaining for ERA, in the epithelium was similar in both treated groups, and was higher in the stroma of the GnRH than the P+GnRH treated group. On day 5, the immunostaining for ERA, in both epithelium and stroma, was higher in the GnRH than the P+GnRH treated group. This results demonstrated that the GnRH treatment alone to anoestrous ewes induce a higher ERA expression in the vagina than with Progesterone-pretreatment.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Clark J. H. et al. The Physiology of Reproduction. Ed: Knobil E. Neill J.D. Raven Press Ltd. N.Y. 17: 1011-1046, 1994.
- 2) Couse J. F. et al. Endocr. Rev. 20: 358, 1999.
- 3) Yung K.H. et al.. Endocrinology. 139 (3):913, 1998.
- 4) Buchanan D.L. et al. Endocrinology. 139: 4345, 1998.
- 5) Acuña S. et al. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú-Uruguay. 130-131, 2006.
- 6) McLeod, B.J. et al. J. Reprod. Fert. 65: 223, 1982.
- 7) Tasende C. et al. Reprod. Fertil Dev. 17: 565, 2005.