



DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA (RE_{α}) POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN VAGINA DE OVEJAS DURANTE EL CICLO ESTRAL

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

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue investigar la distribución de los receptores de estrógenos alfa (RE_{α}) por inmunohistoquímica en la vagina de ovejas durante el ciclo estral. El inmunomarcado del RE_{α} fue mayor al día 1 (n=5), que en los días 6 (n=4) y 13 (n=3) luego del estro. En el epitelio vaginal se encontraron las mismas diferencias. En el estroma, el inmunomarcado sólo fue diferente al día 1. El inmunomarcado fue mayor en el epitelio que en el estroma al día 1; al 6 no hubo diferencias, mientras que al 13 fue menor en el epitelio. Éstos resultados demuestran que en ovinos, la sensibilidad de la vagina a los estrógenos, en términos de RE_{α} , varía en relación a los días del ciclo y a los tipos celulares.

SUMMARY

The objective of this study was to investigate the distribution of estrogen receptor alpha (ER_{α}) by immunohistochemistry in vagina of ewes during oestrous cycle. The ER_{α} immunostaining was higher on day 1 (n=5) than on days 6 (n=4) and 13 (n=3) after oestrus. In the vaginal epithelium similar differences were found. In the stroma the immunostaining only was different on day 1. Immunostaining of epithelium was higher than stroma on day 1, was not different on day 6 while was lower in the epithelium on day 13. These results demonstrated that the sensitivity of the ovine vagina to oestrogen, in terms of ER_{α} , was modified in relation to the days of the oestrous cycle and the cell types.

INTRODUCCIÓN

La vagina funciona como órgano excretor para las secreciones del útero y oviductos, como canal de parto y en rumiantes como depósito del semen. En ovinos durante el ciclo estral, la vagina sufre cambios morfológicos dirigidos por los estrógenos y progesterona (P) (1). Los estrógenos y P actúan a través de receptores nucleares, cuya concentración tisular puede ser regulada por los niveles circulantes de estrógenos y P. La presencia de receptores de estrógenos (RE), está vinculada a la sensibilidad y capacidad de respuesta del tejido (2). En la rata, los estrógenos actuando a través del REa, estimularon el crecimiento epitelial, la cornificación y estratificación normal de la vagina, (3,4). En vagina de ratonas, la ausencia de RE_{α} produjo infertilidad (5) y su activación excesiva

resultó en hiperplasia y lesiones cancerosas (6). No hemos encontrado trabajos en los que se hayan estudiado los RE^* en la vagina de ovejas durante el ciclo estral. El objetivo de éste trabajo fue estudiar la distribución de los RE_{α}^* por Inmunohistoquímica, en la vagina de ovejas durante el ciclo estral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ovejas Corriedale adultas, sincronizadas con PGF2 α^* fueron sacrificadas a los días 1, 6 y 13 del estro detectado por retarjo. Muestras de vagina fueron disecadas, congeladas en N2 líquido y almacenadas a -80°C. Los RE^* fueron determinados por inmunohistoquímica (7) en muestras de vaginas de los días 1 (n=5), 6 (n=4) y 13 (n=3). Se estudió el inmunomarcado en dos tipos celulares: epitelio (E) y estroma (Es). El inmunomarcado fue evaluado por dos observadores y expresado en porcentaje de núcleos positivos (7). Los resultados fueron analizados por ANOVA, incluyendo el efecto del observador, del día y del tipo celular. No hubo diferencias de observador en la evaluación. Las concentraciones plasmáticas de Estradiol (E2, promedio \pm EEM, pmol/L) fueron 10.3 \pm 0.9; 8.3 \pm 0.9 y 8.1 \pm 0.9 y de P (promedio \pm EEM, nmol/L) fueron 0.70 \pm 0.6; 7.1 \pm 0.9 y 10.3 \pm 0.9 para las ovejas sacrificadas los días 1, 6 y 13 respectivamente (8).

RESULTADOS

Los RE_{α} se detectaron en el núcleo de los dos tipos celulares estudiados, los tres días del ciclo y en todas las ovejas. El porcentaje total (E+Es) de células positivas (inmunomarcado) para REa fue diferente en los tres días estudiados (p<0.05), (figura 1A). Al día 1, el inmunomarcado del RE_{α} fue mayor en E que en Es, al día 6 no hubo diferencias, mientras que al día 13 fue menor en el E que en el Es (p<0.05), (figura 1B). En el E, el inmunomarcado del RE_{α} fue mayor al día 1, intermedio al día 6 y menor al día 13 (p<0.05), (figura 1B) En el Es el inmunomarcado del RE_{α} fue mayor al día 1 que en los días 6 y 13 (p<0.05) y no hubo diferencias entre los días 6 y 13, (figura 1B).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo demuestran que en ovinos, la sensibilidad de la vagina a los estrógenos, en términos de RE_{α} , varía en forma importante durante el ciclo estral. Contrariamente, en la vagina de perra no se

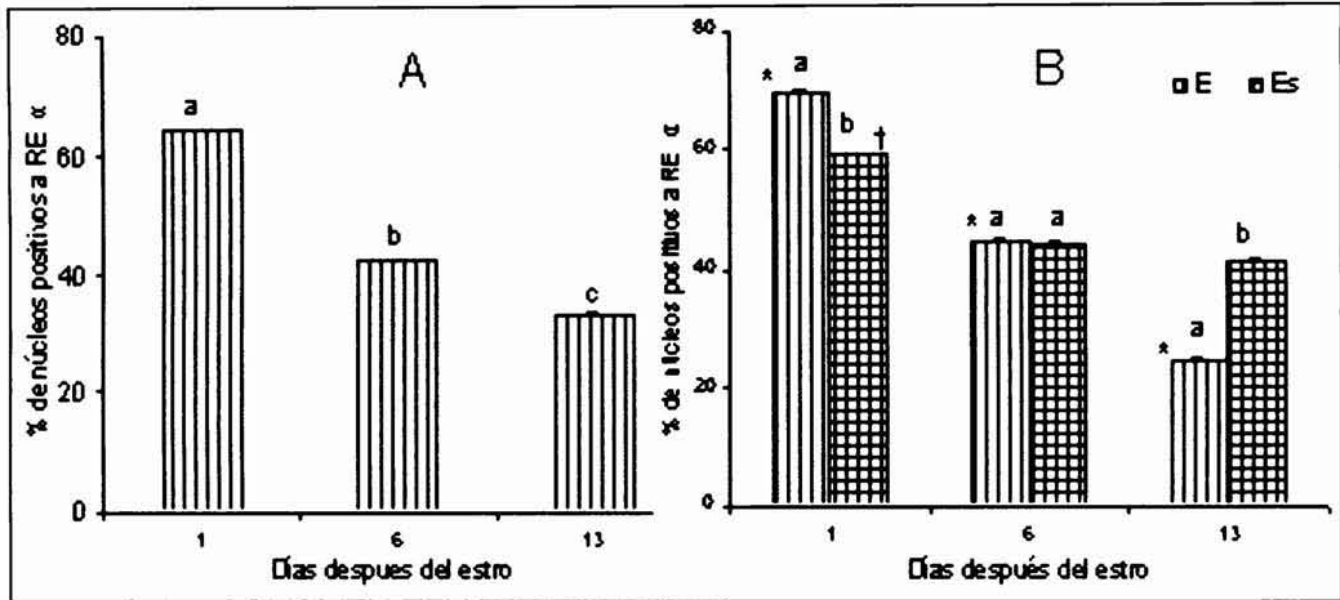


Figura 1: % de núcleos positivos a RE α en vagina de ovejas durante el ciclo estral los días 1 (n=5), 6 (n=4) y 13 (n=3) del estro. A: % total (epitelio, E + estroma, Es). B: % diferenciado por tipo celular, (E y Es). Letras en A difieren entre días, en B difieren entre tipo celular para un mismo día; (*) indica diferencias en el E entre días y (†) indica diferencia en el Es al día 1 vs 6 y 13. ($p < 0,05$).

encontraron cambios del RE α durante el ciclo estral (9). La localización del RE α en E y Es de vagina ovina concuerda con lo reportado para otras especies (4, 9, 10, 11). La menor expresión del RE α en fase luteal podría deberse al efecto inhibitorio de la P sobre la expresión del RE (8). La expresión diferencial del RE α , entre el E y el Es de la vagina de ovejas durante el ciclo estral, está en acuerdo con lo reportado para otras especies (9,11). En el Es, al día 1, encontramos una mayor expresión del RE α , sin embargo, Wang et al (11), no encontraron diferencias del RE α en el Es de la vagina de ratas durante el ciclo estral. Este es el primer trabajo que determina la distribución del RE α por inmunohistoquímica, en la vagina de ovejas durante el ciclo estral. Los hallazgos demuestran que en ovinos, la sensibilidad de la vagina a los estrógenos, en términos de RE α , varía en relación a los días del ciclo y a los tipos celulares.

AGRADECIMIENTOS

Financiación CSIC, CIDEA. A Ana Meikle e Isabel Sartore

BIBLIOGRAFÍA

1. Hafez ESE. Anatomía del aparato reproductor femenino. Reproducción e inseminación artificial en animales. McGraw-Hill. 2:50-51,1999.
2. Clark J. H. et al. Actions of steroid hormones. The Physiology of Reproduction. Ed: Knobil E. Neill J.D. Raven Press Ltd. N.Y. 17: 1011-1046, 1994.

3. Yung K.H. et al. (1998): Uterine and Vaginal Organ Growth Requires Epidermal Growth Factor Receptor Signaling from stroma. *Endocrinology*. 139 (3):913-921.

4. Buchanan D.L. et al. (1998): Role of Stromal and Epithelial Estrogen Receptors in Vaginal Epithelial Proliferation, Stratification, and Cornification. *Endocrinology*. 139 (10) 4345-4352.

5. Couse J. F. et al. (1999): Estrogen Receptor Null Mice: What Have We Learned and Where Will They Lead Us? *Endocr. Rev.* 20:358-417.

6. Miyagawa S. et al. (2004): Estrogen-independent activation of erbBs signaling and estrogen receptor α in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *Oncogene* 23(2): 340-349.

7. Meikle A., et al. (2000). An immunohistochemical study on the regulation of estrogen receptor α by the estradiol in the endometrium of the immature ewe. *Reprod. Nutr. Dev.*, 40: 283-293.

8. Tasende C. et al. (2005): Corpus luteum life span and pituitary oestrogen and progesterone receptors in cyclic and gonadotrophin-releasing hormone-treated anoestrous ewes. *Reprod. Fertil. Dev.* 17 (1): 721-726.

9. Vermeirsch H. et al. (2002): Immunolocalization of sex steroid hormone receptors in the canine uterine tube and their relation to sex steroid hormone concentrations. *Reprod. Fertil. Dev.* 14(4):241-250

10. Kang J.S. et al. (2003): Expression of Estrogen Receptors α and β in the Uterus and Vagina of Immature Rats Treated with 17-Ethinyl Estradiol. *J. Vet. Med. Sci.* 65(12):1293-1297.

11. Wang H. et al. (2000): Estrogen Receptors α and β In the Female Reproductive Tract of the Rat During the Estrous Cycle. *Biol. Reprod.* 63 (5):1331-1340.