



RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA EN EL CERVIX CAUDAL OVINO: (I) EN EL ANESTRO ESTACIONAL Y EN LA OVULACIÓN INDUCIDA

*M. Rodríguez-Piñón, C. Tasende,
P. Puime y E.G. Garófalo*

Bioquímica, Facultad de Veterinaria, Montevideo-
Uruguay. marodri@adinet.com.uy

RESUMEN

El objetivo de éste trabajo fue determinar los niveles expresión de Receptores de Estrógenos (RE) y de Progesterona (PR) del cervix caudal de ovejas en anestro estacional e inducidas a ovular, midiendo la concentración del ARN mensajero del receptor de E (RE ARNm) y de los RE y RP. Se utilizaron ovejas en anestro estacional comprobado por retarjo: no tratadas (Grupo A, n=4), tratadas con P (CIDR) (Grupo P, n=4), con un análogo sintético de GnRH (Receptal) (Grupo GnRH, n=4) y con el tratamiento combinado de P y GnRH (Grupo P+GnRH, n=3). En el cervix caudal se midieron las concentraciones de RE ARNm por hibridación en solución y las de RE y RP por ensayos de unión. El tratamiento con GnRH aumentó significativamente la concentración de RE ARNm respecto a los Grupos A y P, $p < 0,05$. Ninguno de los tratamientos modificó significativamente la concentración de RE. La concentración de RP en el Grupo P fue menor respecto a la de los Grupos tratados con GnRH, $p < 0,03$. Los datos demuestran que los tratamientos con GnRH y/o P para inducir la ovulación durante el anestro estacional pueden modificar la expresión de RE y RP en el cervix caudal de ovejas y por lo tanto la sensibilidad del mismo a las hormonas esteroideas.

SUMMARY

The aim of this work was to determine the expression levels of Estrogens (RE) and Progesterone (PR) receptors in caudal cervix of the seasonal anoestrous ewes induced to ovulate, measuring the estrogens receptor RNA messenger (ER mRNA) and the RE and RP concentrations. Seasonal anoestrous ewes checked by vasectomized rams were: not treated (Group A, n=4) or treated with P (Easi Breed-CIDR-G, Universal Lab) (Group P, n=4), GnRH analogous (Busereline Acetate, Receptal, Hoechst Roussel) (Group GnRH, n=4) and the combined P and GnRH treatment (Group P+GnRH, n=3). In the caudal cervix the ER-mRNA concentration were measured by solution hibridación and the ER and PR levels by binding assay. The GnRH treatment increased the ER mRNA concentration respect to the Groups A and P, $p < 0,05$. None of the treatments modified the ER concentration significantly. The PR concentration in the Group P was lower respect to the GnRH treated Groups, $p < 0,03$. The ER-mRNA, ER and PR concentrations in the caudal cervix were three to five times lower than in the cranial cervix. The data demonstrate that the GnRH and/or P treatments to induce the ovulation during the seasonal anoestrus in ewe, can modify the ER and PR expression in the caudal cervix and alter its sensibility to the steroid hormones.

INTRODUCCIÓN

La apertura, el cierre y la capacidad secretora del cervix, están influenciados por los Estrógenos (E) y la Progesterona (P) (2). Las acciones de E y P se ejercen a través de sus receptores nucleares específicos (RE y RP) los cuales constituyen factores de transcripción y regulación de la expresión génica (1). Los niveles circulantes de las hormonas ováricas durante el ciclo estral regulan sus propios receptores en útero: los E aumentan los niveles de mensajeros (RE ARNm y RP-ARNm) y las concentraciones de las proteínas de unión (RE y RP), mientras la P las reduce, actuando como inhibidor de la expresión de ambos receptores (1,6). En el cervix craneal de ovejas en anestro estacional y a los 30 días postparto se encontraron concentraciones de RE y RP comparables a las uterinas (5,4). El tratamiento con P de las ovejas en anestro estacional disminuyó los niveles de ambos receptores a valores similares a los de las ovejas en el postparto inmediato (5 días). Estos resultados muestran que los niveles de RE y RP del cervix craneal pueden ser modificados por las concentraciones circulantes de E y P según las diferentes situaciones reproductivas. Teniendo en cuenta que el cervix caudal presenta una morfología diferente al cervix craneal (3), el objetivo del presente trabajo fue estudiar los efectos de tratamientos hormonales destinados a la inducción de la ovulación en ovejas en anestro estacional, sobre la expresión de los receptores de las hormonas esteroideas en el cervix caudal.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ovejas Corriedale (42,0±1,2 Kg), múltiparas y en anestro estacional comprobado con retarjo. Los ensayos se realizaron en setiembre, en Uruguay a 34° latitud Sur. El Grupo A (n=4) no recibió tratamiento, el Grupo P (n=4) fue tratado con un dispositivo intravaginal conteniendo 0,33 g de P (Easi Breed-CIDR-G, Universal Lab) durante 10 días y el grupo GnRH (n=4) fue tratado cada 2 h con 6,7 ng de un análogo sintético de GnRH *i/v* (Acetato de Buserelina, Receptal-Hoechst) y a las 18 h con un bolo *i/v* de GnRH (4 µg) para inducir la ovulación. El Grupo P+GnRH (n=3) recibió el tratamiento combinado de P y GnRH (CIDR-G durante 10 días y al retirarlo se les administró 6,7 ng de Receptal *i/v* cada 2 h y a las 18 h un bolo *i/v* de 4 µg (7). Los animales fueron sacrificados al inicio del diseño experimental (Grupo A), al retirar el CIDR (Grupo P) y 24 h luego de la administración del bolo de GnRH (Grupos GnRH y P+GnRH). El examen macroscópico de los ovarios mostró que 5 de los 7 animales inducidos a ovular tuvieron folículos ovulados y los dos restantes presentaron folículos preovulatorios. Las concentraciones de P al momento del sacrificio fueron: basales (1.3±0.6; 1.3±0.3; 0.6±0.3nmol/L) para los grupos A, GnRH y P+GnRH y 5.2±0.6nmol/L para el Grupo P. Las de E fueron entre 10 - 15 pmol/L en Grupo P+GnRH y 28-32pmol/L en Grupo GnRH (datos publicados por nuestro equipo 7). Al sacrificio fueron extraídos los cervix y disecados los tercios caudales para las determinaciones de las concentraciones



nes de RE ARNm por Hibridización en Solución con sonda marcada específica para ovinos y la de las proteínas RE y RP por Ensayos de Unión con las hormonas radiactivas (4). Las concentraciones de RE ARNm expresadas en amol/ μ g ADN y las de RE y RP en fmol/mg de proteínas de los diferentes grupos se compararon mediante el procedimiento de Modelo Lineal General para el Análisis de Varianza (S.A.S. Institute Inc., 1994) incluyendo el efecto de grupo de tratamiento.

RESULTADOS

El tratamiento con GnRH (Grupos GnRH y

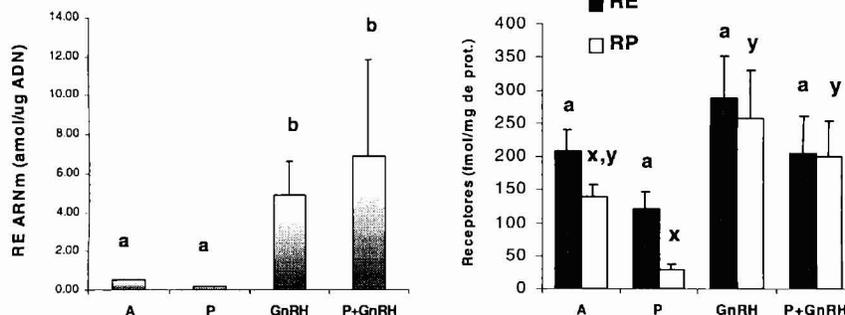


Figura - Niveles ($X \pm sem$) de RE ARNm (amol/mg de ADN, panel izquierdo) y concentraciones ($X \pm sem$) de RE y RP (fmol/mg de proteínas, panel derecho) en cervix caudal de ovejas en anestro estacional no tratadas (Grupo A, $n=4$) y tratadas con P (Grupo P, $n=4$), o GnRH (Grupo GnRH, $n=4$) o en forma combinada (Grupo P+GnRH, $n=3$). Para RE ARNm y para cada receptor, diferentes letras indican diferencias $p < 0,05$.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El cervix caudal de las ovejas inducidas a ovular tuvo mayores niveles de RE ARNm que el de las ovejas en anestro estacional, en concordancia con el aumento de los niveles de E2 circulante en las ovejas tratadas con GnRH (7). Contrariamente a lo descrito en cervix craneal (5), el estímulo de la transcripción del gen de RE en las ovejas inducidas a ovular no se acompañó de incrementos en las concentraciones del RE, lo que podría deberse a mecanismos post-transcripcionales de regulación y/o mayor índice de recambio o procesamiento de la proteína RE. Tampoco se observaron incrementos significativos del RP luego del tratamiento con GnRH, en acuerdo con la dependencia de expresión entre ambos receptores. Comparando las concentraciones de RP del cervix caudal de los animales tratados solo con P respecto a los tratados con P+GnRH, se aprecia que la P fue capaz de inhibir su propio receptor y el tratamiento con GnRH fue capaz de recuperar la expresión de RP a los niveles basales del anestro, en acuerdo con lo encontrado en cervix craneal (5). Los datos demuestran que los tratamientos con GnRH y/o P para inducir la ovulación durante el anestro estacional pueden modificar la expresión de RE y RP en el cervix caudal de ovejas y por lo tanto la sensibilidad del mismo a las hormonas esteroideas.

Agradecimientos: A la Dra. Meikle por la asistencia técnica en las determinaciones de transcritos. A P. Rubianes e I. Sartore por la instrumentación del trabajo experimental.

Financiación: CIDEF-Facultad de Veterinaria, CSIC-Universidad de la República y PEDECIBA-Ministerio de Educación y Cultura; IFS: B/3025-2.

REFERENCIAS

- Clark JH, Mani SK. Actions of ovarian steroid hormones. In: The Physiology of Reproduction. Eds: Knobil E., Neill J.D., Raven Press Ltd. New York, 1011-1046, 1994.
- Gorodeski GI, The cervical cycle. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z (Eds), Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 301-324, 1996.
- Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrel BC, The structure of the cervical canal of the ewe. Theriogenology 33: 978-993, 1990a.
- Rodríguez-Piñón M, Tasende C, Meikle A, Garófalo EG. Sex steroid receptors in ovine cervix during the postpartum period. Theriogenology 53: 745-750, 2000.
- Rodríguez-Piñón M, Tasende C, Meikle A, Puime P, Acuña S y Garófalo EG. Sensibilidad del cervix ovino a las hormonas esteroideas en anestro estacional y en la ovulación inducida. XII Congreso Nacional de Veterinaria. Póster 125, Montevideo Uruguay, Noviembre, 2001.
- Spencer TE, Bazer FW. Temporal and spatial alterations in uterine estrogens receptor and progesterone receptor gene expression during the oestrous cycle and early pregnancy in the ewe. Biol Reprod 53: 1527-1543, 1995.
- Tasende C, Meikle A, Rodríguez-Piñón M, Forsberg M and Garófalo EG. Estrogen and progesterone receptor content in the pituitary gland and uterus of progesterone-primed and gonadotrophin releasing hormone treated anoestrous ewes. Theriogenology, 57: 1719-1731, 2002.