

Efectos del neuroesteroide allopregnenolona sobre la morfo-fisiología ovárica. Potencial aplicación en la clínica veterinaria

Effects of the neurosteroid allopregnenolone on ovarian morphology. Potential clinical veterinary application

A. R. R Cáceres^{1,2}; M. Caliri¹; L. Pelegrina^{1,2}; A. Martínez³; F. Parborell⁴; M. R. Laconi^{1,2}

¹Laboratorio de Fisiopatología ovárica. Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza. Argentina .

²Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU)- CONICET ³Instituto de Medicina Reproductiva. Mendoza. Argentina ⁴Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME) – CONICET

Contacto: acaceres@mendoza-conicet.gob.ar

Palabras clave: Ovario; Allopregnanolona; Apoptosis
Key Words: Ovary; Allopregnanolone; Apoptosis

Introducción: los esteroides sintetizados y metabolizados en el sistema nervioso central (SNC) se denominan neuroesteroides y poseen un alto potencial de uso farmacológico en la regulación endócrina del síndrome premenstrual y postmenopáusico. En este trabajo se aborda el efecto potencial sobre la fertilidad y aspectos de la biología reproductiva de la hembra. Allopregnenolona (ALLO) es un metabolito activo de progesterona (Pg). Presenta propiedades a nivel del SNC tales como la reducción de la ansiedad y la potenciación de la memoria. Su concentración varía durante el ciclo estral, la preñez y en situaciones de estrés. Previamente probamos que ALLO administrada intracerebroventricular (icv) en una dosis farmacológica (6µM) ejerce efectos sobre parámetros reproductivos. Produjo inhibición de la hormona luteinizante (LH), de la ovulación y de la receptividad sexual; indujo un aumento de los niveles de Pg y prolactina sérica. A nivel central se conoce que actúa sobre el receptor GABA, pero en ovario aún se desconocen los mecanismos de acción. Hipotetizamos que el efecto de ALLO podría extenderse a la morfo-fisiología ovárica. Determinamos, con la misma dosis los efectos de ALLO i.c.v. sobre el proceso de regresión lútea, la concentración de Pg ovárica y sérica, el proceso de apoptosis en folículos y la morfometría ovárica junto con la evaluación de la proliferación celular y la angiogénesis en cuerpos lúteos.

Objetivos: evaluar el efecto de la administración de ALLO intrabursa a las 24 y 120 h (2 estros consecutivos) sobre la apoptosis, la angiogénesis y sobre la morfo-fisiología ovárica de la rata adulta en ciclo. Determinar mediante una curva dosis/respuesta la dosis efectiva en este modelo experimental.

Metodología: se utilizarán ratas hembras adultas (Sprague Dawley de 60 días de edad; 250 – 300g, nacidas y criadas en el bioterio de IMBECU y mantenidas en condiciones controladas (21±2°C y 12 hs luz/12 hs oscuridad),

con libre acceso a alimento y agua. Todos los experimentos de este trabajo siguen las pautas para cuidado y uso de animales de laboratorio provistas por el CICUAL (Protocolo N° 141021/2015). Diseño Experimental: en la mañana del proestro se procede a la administración intrabursa del neuroesteroide en un volumen de 5µl/ovario en el ovario izquierdo y vehículo en el derecho mediante una jeringa Hamilton ultradelgada. Los animales serán anestesiados según protocolos de rutina (Ketamina 100 mg/kg + Xilazina 10 mg/kg i.p.). Luego del sacrificio, se colectará la sangre troncal, se extraerán ambos ovarios y se verificará la ovulación mediante punción en la ámpula y recuento de los ovocitos. Luego se limpiarán los ovarios y se fijarán en solución de Bouin para el posterior procesamiento histológico e inmunohistoquímico.

Resultados esperados: utilizando técnicas de Inmunohistoquímica se identificarán los factores pro y anti-angiogénicos (α -actina y Von Willebrand); los factores pro y anti-apoptóticos (Caspasa 3 clivada y BCL2, BAX) y el factor de proliferación PCNA. Por otro lado, se realizarán estudios endócrinos para la medición por radioinmunoanálisis de suero troncal para la determinación de los niveles de estrógeno y progesterona. Se medirán las actividades de las enzimas esteroideogénicas 3 β -HSD y la 20 α -HSD en tejido ovárico y se realizarán estudios de funcionalidad mediante la administración concomitante de Bicuculina (antagonista GABA_A). Los resultados procesados hasta el momento indican que ALLO en ovario genera alteración de las estructuras foliculares y luteales, aumenta la atresia folicular, genera quistes foliculares y luteales y altera los factores apoptóticos y angiogénicos. Esta droga tiene un potencial uso farmacológico clínico en procesos cancerígenos.