

Rol de allopregnanolona en la morfo-fisiología del ovario de la rata

Role of allopregnanolone in the morphophysiology of the rat ovary

A. R. R. Cáceres^{1, 2}; L. T. Pelegrina²; M. R. Laconi²

¹Universidad Juan Agustín Maza

²Laboratorio de Fisiopatología Ovárica y Neurobiología. IMBECU-CONICET

Contacto: acaceres@mendoza-conicet.gob.ar

Palabras clave: allopregnanolona – reproducción – angiogénesis - morfometría ovárica

Key Words: *allopregnanolone – reproduction – angiogenesis - ovarian morphometry*

Introducción

La allopregnanolona (ALLO), un neuroesteroide metabolito de la progesterona, es sintetizada de novo en el SN. En trabajos previos utilizando ALLO vía intracerebroventricular (icv) a una dosis de 6 μ M (inferior a los niveles máximos encontrados en hembras estresadas), inhibió la receptividad sexual y la ovulación. Los efectos antes mencionados se generaron por una desregulación del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal.

Objetivo

Evaluar el efecto de la administración intra-bursa ovárica de ALLO en la mañana del proestro, en una dosis de 6 μ M y analizar los cambios morfométricos (histología ovárica) e inmunohistoquímicos (factores pro-angiogénicos: β -actina y factor de Von Willebrand) 24 h post inyección (estro) en ratas en ciclo.

Metodología

Se usaron 5 ratas hembras vírgenes de la cepa Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) de 60 días de edad, de 200 – 300g, criadas en el bioterio de IMBECU- CONICET, mantenidas bajo condiciones estándar de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) y fotoperíodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad, con libre acceso a alimento (balanceado Cargill, Córdoba) y agua. En todos los experimentos realizados se siguieron las pautas para cuidado y uso de animales de laboratorio provistas por el CICUAL Aval N° 42/2015, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. Una vez que se confirmó por citología vaginal el proestro (entre las 7 y las 9 am), se procedió a la administración intra-bursa ovárica de un volumen de 5 μ l de ALLO correspondiente a una dosis de 6 μ M en el ovario izquierdo y 5 μ l de vehículo (solución fisiológica) en el ovario derecho. Para la anestesia se utilizó una combinación de ketamina (80 mg/kg) y xilacina (10 mg/kg) intraperitoneal. En la mañana del estro, 24 h después de la administración de la droga, se procedió al sacrificio de los animales por medio de decapitación con guillotina. Se extrajeron ambos ovarios, se eliminó la grasa periférica, la bursa y el oviducto con ayuda de una lupa binocular estereoscópi-

ca Carl Zeiss. Se fijaron en Solución de Bouin durante 24 h, luego se procedió a la deshidratación y posterior inclusión en parafina para la obtención de los cortes histológicos. Se realizó un tratamiento «pareado», o sea que a cada animal se le extrajo el ovario izquierdo (tratado) y el derecho (control) que fueron procesados en contenedores individuales. Los cortes histológicos se usaron para la evaluación morfométrica mediante coloración de hematoxilina – eosina o técnicas inmunohistoquímicas.

Resultados

Se observó que ALLO indujo un aumento significativo del número de folículos atrésicos y produjo la aparición de quistes foliculares. No hubo diferencias significativas ni el recuento ni en el diámetro de folículos normales. Los cuerpos lúteos presentes en los ovarios tratados mostraron un aumento significativo del diámetro con respecto a los controles, aunque el número de estas estructuras no presentó diferencias. La medición del área vascular relativa en los cortes procesados mediante inmunohistoquímica reveló un aumento significativo de la vascularización en los ovarios inyectados con ALLO.

Discusión y conclusión

Los resultados encontrados demuestran el efecto de ALLO como pro-apoptótico a nivel folicular, lo que refuerza nuestros hallazgos previos en β modelo de administración icv. Del mismo modo, ALLO intra-bursa causó un aumento de la atresia folicular y de las estructuras quísticas. En cuanto a los efectos sobre los cuerpos lúteos, encontramos un aumento significativo del diámetro asociado a un aumento de la vascularización, por lo que se podría inferir que son CL con alta capacidad esteroideogénica. Finalmente, ALLO causó un efecto pro angiogénico en el ovario completo. En base a lo antes planteado, podríamos concluir que ALLO afecta el desarrollo folicular y la luteólisis ejerciendo sus efectos de manera local en el ovario.