

Resúmenes Tesis: Maestría en Salud Ambiental

Caracterización del oviducto de *caiman latirostris* como órgano blanco de la acción de estrógenos ambientales

Germán Galoppo

ggaloppo@fbc.unl.edu.ar

Director: Dra. Mónica Muñoz de Toro

Co-Director: Dra Cora Stoker

Lugar de realización: Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL), UNL-CONICET.

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL

Fecha de la defensa: 11 de Agosto de 2015.

Resumen

La exposición medioambiental de la fauna y el hombre a compuestos capaces de interferir con la homeostasis del sistema endócrino, llamados perturbadores endocrinos (PEs) tiene efectos sobre muchos aspectos del desarrollo, conducta, reproducción, dinámica poblacional e incidencia de enfermedades metabólicas. El Bisfenol A (BPA) es un PE de presencia ubicua en el medioambiente ampliamente utilizado en la industria de plásticos y resinas epoxi. La selección de especies centinelas y biomarcadores de exposición y efecto a PEs, es fundamental para el monitoreo de contaminación ambiental por este tipo de sustancias. El yacaré overo (*Caiman latirostris*) es una especie ovípara sensible a la contaminación por PEs, propuesta como centinela. El oviducto es un órgano hormono-dependiente, altamente sensible a la acción de hormonas y PEs durante el proceso de maduración postnatal.

Nuestro objetivo fue describir las características histofuncionales del oviducto de *Caiman latirostris* (C. latirostris) desde el período postnatal temprano a juveniles y establecer las bases celulares y moleculares de las alteraciones inducidas por la exposición experimental a PEs. Para ello se recolectaron huevos de yacaré overo en su hábitat natural previamente a su determinación sexual y se incubaron a 30°C (temperatura productora de 100% de hembras). Para establecer el patrón temporal y espacial de los cambios en la histoarquitectura oviductal, se utilizaron hembras controles sacrificadas en diferentes estadios madurativos (neonatos, postnatales tempranos, postnatales avanzados y juveniles). Para evaluar la dinámica de los cambios oviductales ante la exposición postnatal temprana a PEs, hembras en estadio postnatal temprano se distribuyeron en 4 grupos experimentales, vehículo; control positivo de exposición a estrógenos (E2 0,014ppm y E2 1,4ppm); y exposición a un PE (BPA 1,4ppm). Los tratamientos se administraron en inyecciones subcutáneas aplicadas los días 26 y 33 post nacimiento. Los protocolos difieren en el momento de sacrificio (24 horas y 7 días luego de la última inyección).

El estudio de la histoarquitectura e histofuncionalidad oviductal se realizó sobre cortes histológicos de oviductos procesados hasta su inclusión en parafina. Se usaron técnicas histoquímicas (picrosirius-hema-

toxilina de Harris; picosirius-hematoxilina de Harris para polarización y PAS) e inmunohistoquímicas (expresión de α -actina, desmina, receptor de estrógeno alfa –ER α -, receptor de progesterona –PR- e incorporación de BrdU). Para evaluar los cambios histomorfológicos se estableció un sistema de score basado en la presencia de características histológicas. Además se determinó la altura del epitelio luminal y grado de organización de colágeno por análisis de imágenes digitalizadas.

Nuestros resultados indican que la maduración del oviducto de *C. latirostris* se caracteriza por cambios que imitan el patrón descrito para mamíferos. En el período estudiado, valiéndonos de un score histomorfológico, pudimos distinguir estadio preadenogénico y adenogénico. Los cambios en la expresión de ER α y de PR evidencian que el oviducto de *C. latirostris*, aún en estadios tempranos del desarrollo postnatal, es un órgano blanco de las hormonas esteroideas gonadales. Se observa además, una relación inversa entre actividad proliferativa y los cambios histomorfológicos que indican diferenciación funcional del oviducto.

La exposición durante el estadio postnatal temprano a PEs, modifica el patrón temporal del desarrollo postnatal del oviducto de *C. latirostris*, adelantando los cambios madurativos según evidencia el score histomorfológico. De esta manera, confirmamos que durante el estadio postnatal temprano, el oviducto es sensible a la exposición a estrógenos ambientales. El aumento de la desorganización del colágeno subepitelial observado en el oviducto de animales expuestos a PEs sugiere una modificación en el diálogo epitelial-subepitelial que podría afectar el proceso de diferenciación

organogénica. El grado de organización del colágeno fue el parámetro más sensible a la perturbación. Se modificó rápidamente aún frente a situaciones de desorganización basal alta y se mantuvo en el tiempo; siendo, en consecuencia un buen biomarcador oviductal de exposición a PEs.

El modelo de exposición postnatal con evaluación luego de 7 días de finalizada la exposición es adecuado para el estudio a corto plazo de efectos de la exposición a PEs sobre el oviducto

Summary

Characterization of the oviduct of *Caiman latirostris* as a target organ of environmental estrogens.

Caiman latirostris is a South American crocodylian species characterized as a sentinel of the presence of endocrine-disrupting compounds (EDCs). In this study, we describe the histomorphological features of *C. latirostris* oviducts by establishing the ontogeny of changes at cellular, tissue and molecular levels from the neonatal to the pre-pubertal juvenile stages; and we defined a histofunctional score system and a cut-off value to distinguish between preadenogenic and adenogenic oviducts. We established the basis of alterations induced by experimental exposure to EDCs as well. Our results showed that the maturation of the *C. latirostris* oviduct is completed postnatally and characterized by changes that mimic the pattern of histological modifications described for the mammalian uterus. Ontogenic changes in the oviductal epithelium parallel changes at subepithelial level, and include collagen remodeling and characteristic spatial-temporal patterns of α -actin and desmin. The expression pattern of estrogen receptor alpha and pro-

gesterone receptor evidenced that, even at early postnatal developmental stages, the oviduct of *C. latirostris* is a target organ of endogenous and environmental hormones. Early postnatal stage exposure to EDs classified as xenoestrogens, modifies temporal pattern of *C. latirostris* oviduct postnatal development, advancing the maturational changes as evidenced by histofunctional

score. Thus, we confirmed that the oviduct is sensitive to environmental estrogens exposure during early postnatal stage. Results presented here provide not only insights into the histophysiological aspect of caiman female reproductive ducts but also new tools to better characterize caimans as sentinels of endocrine disruption