

En esta sección los trabajos presentados deberán reunir las siguientes condiciones:

1. Deberán estar escritos en castellano.
2. Preferentemente en Word.
3. No deberán superar preferentemente las 25 carillas de hoja tamaño A4, escritas en cuerpo de letra 12, a doble espacio.
4. El ordenamiento de los mismos deberá seguir la estructura clásica de:
 - a. Título.
 - b. Autores, centro al que pertenecen y correo electrónico de contacto.
 - c. Resumen en castellano y en inglés (excluyente) de no más de 200 palabras.
 - d. Palabras clave: no más de 5 (cinco).
 - e. Introducción.
 - f. Material y métodos.
 - g. Resultados.
 - h. Discusión.
5. Las abreviaturas deberán ser definidas al ser mencionadas por primera vez,

excepto aquellas aceptadas por convención (por ejemplo, FIV, ICSI, etc).

6. Tablas y cuadros: en blanco y negro, teniendo especial cuidado de ser bien referidos desde el texto.
 7. Figuras: todas serán en blanco y negro.
 8. Bibliografía: las citas se harán en el texto y se ordenarán en forma correlativa al final del trabajo por orden de aparición. Las citas de revistas deberán consignarse de la siguiente manera:
 - a) apellido completo e iniciales de los 3 primeros autores, sin puntos y separados por comas; si hubiera más, puede colocarse "et al"; b) título del trabajo; c) abreviatura del nombre de la revista (tal como figuran en el Index Medicus); y e) año, volumen, número de la revista (optativo), página inicial y final.
- En todos los casos el envío de trabajos, comentarios y publicaciones deberá hacerse por correo electrónico a la dirección de la secretaría de SAMeR: info@samer.org.ar

Efectos del glifosato sobre el endometrio de ratas hembras

Idelma Serpa,¹⁻² Karina Calvo,² Valentina Torres Monserrat,² Marinés Carbonaro,² Miguel Ángel Martínez,³ Marcelo Rodríguez,¹ Enzo Peralta,¹ Enrique Coscarelli¹

¹ Instituto Universitario Italiano de Rosario (IUNIR), Rosario, Argentina.

² Programa de Asistencia Reproductiva de Rosario (PROAR), Rosario, Argentina.

³ Hospital Provincial, Rosario, Argentina.

Reproducción 2015;30:14-25

Resumen

Objetivo. Evaluar el efecto del glifosato (Roundup Full II®) sobre el status reproductivo en ratas hembras. **Diseño.** Experimental en modelo animal. **Materiales y métodos.** 18 ratas Wistars hembras, adultas, de 80-90 días, con un peso promedio de 300 grs. Nueve fueron seleccionadas al azar para la administración de 300mg/kg/día de Roundup Full II® por un período de 30 días y 9 ratas de iguales características fueron el control. El día del experimento se les realizó análisis colpocitológico para evaluar el ciclo estral y punción cardíaca para dosar FSH, TSH, estradiol (E2) y progesterona (P) mediante inmunoensayo. Los endometrios, extraídos quirúrgicamente, fueron procesados por inmunohistoquímica para el estudio de receptores de progesterona (RP) utilizando doce anticuerpos monoclonales de ratón incluyendo dos nuevos anticuerpos monoclonales (MAbs), PgR636 y PgR1294, que son capaces de reconocer los receptores en muestras previamente fijadas con formol y embe-

bidadas paraafina. Se realizó conteo de células endometriales con el programa Image J. Las variables fueron analizadas con el paquete estadístico SPSS. **Resultados.** El peso de las ratas hembras expuestas mostró una disminución significativa ($P < 0,001$) entre el inicio y el final del experimento. No hubo diferencias significativas con respecto a los valores de FSH ($P = 0,40$), E2 ($P = 0,84$) y TSH ($P = 0,3$). Se encontró una disminución significativa en los niveles séricos de P ($P = 0,004$) en el grupo de exposición. El recuento de células endometriales en las ratas expuestas fue significativamente mayor al de las no expuestas ($P < 0,001$). No se registró expresión de los RP endometrial en ninguno de los dos grupos. **Conclusión.** La exposición al Roundup Full II® afecta el sistema reproductivo en las ratas hembras expuestas. Induce modificaciones a nivel endometrial aumentando el número de células del estroma y disminuyendo los valores séricos de P, con lo que afectaría la receptividad endometrial y capacidad implantatoria. No se pudo demostrar que este efecto sobre la P esté relacionado con una disrupción endocrina mediada por receptores, posiblemente porque la dosis utilizada en este experimento fue relativamente baja.

Correspondencia: Idelma Serpa
E-mail: idelmaserpa@gmail.com

Palabras claves. *Glifosato, ratas hembras, endometrio, progesterona.*

Glyphosate effects on the endometrium of female rats

Summary

Objective. *To evaluate the effects of glyphosate (Roundup Full II®) on reproductive female rats status. Design. Experimental animal model. Methods.* 18 adult female Wistar rats, 80-90 days old and 300g body weight on average. Rats were divided into 2 groups, the glyphosate (n=9) and control group (n=9). On the experimental group there was given 300mg/kg/day of Roundup Full II® for 30 days on water. The experimental day a colposcopy assay was made to evaluate estrus cycle. Concentrations of progesterone (P), thyroid hormone (TSH), FSH and estradiol (E2) in serum were measured using immunoassay. Rats were sacrificed and uterus were excised by surgery. Endometria were fixed in neutral formalin, and embedded in paraffin. Tissue sections were stained with hematoxylin-eosin for endometrium cells counting. Immunohistochemistry were used to investigate progesterone receptor (PR) expression. The panel of twelve antibodies included two new ones (PgR636 and PgR1294) produced prospectively to be resistant to formalin fixation and paraffin embedding. For statistical analysis SPSS software was used. **Results.** Body weight was significantly lower at the end of the experiment on the exposed group ($P < 0,001$). There were not significant differences on FSH ($P = 0,40$), E2 ($P = 0,84$) and TSH ($P = 0,3$) serum levels but there was a significant reduction on P serum levels on exposed group compared with non-exposed group ($P = 0,004$). Endometrial cells count on the glyphosate group showed a significant increase ($P < 0,001$). On both groups not a single antibody for PR tested showed expression. **Conclusion.** Roundup Full II® exposure affects reproductive female system on rats. It produces an increase on endometrium cells count but a decrease on P serum levels. These effects may interfere with endometrial receptivity and implantation process but it was not possible to show that glyphosate is involved on PR endocrine disruption possibly related to the relative low dose used on this experiment.

Key words. *Glyphosate, female rats, endometrium, progesterone.*

Introducción

La infertilidad femenina es un problema de salud por el cual cada vez más parejas realizan una consulta al médico especialista.

Muchas hipótesis asociadas a cambios medioambientales y alimenticios se han propuesto como agentes causales o predisponentes. Existe, por otra parte, un debate no cerrado aún sobre el efecto de los agroquímicos utilizados en los campos de cultivos, sobre todo de sus componentes aditivos.

La regulación de la progesterona (P) es un factor crítico en la fisiología de la reproducción. En los ciclos estimulados para tratamientos de fertilidad se producen mayor número de folículos ováricos, lo que conlleva a mayor producción de P folicular. Esto conduce a un desfase en la cronología histológica endometrial que se manifiesta en un endometrio avanzado, alterando así el diálogo entre el embrión y el endometrio con la consecuente falla de implantación.^{1, 2, 3}

El mecanismo exacto por el cual los altos niveles de P sérica afectan las tasas de implantación es poco claro. Se sugiere que habría una acción directa por parte de los niveles suprafisiológicos de P en la calidad ovocitaria y en la receptividad endometrial.^{4, 5, 6, 7}

En roedores, la acción coordinada de estrógeno y P, regulando la proliferación y diferenciación de las células uterinas en una manera espacio-temporal, determina o establece la ventana de implantación.⁸

La formación y degradación de los pinópodos en las ratas está íntimamente relacionada con los aumentos y disminución de los niveles de P, respectivamente, a nivel endometrial pero sin correlacionarse con las concentraciones absolutas en plasma de estas hormonas. Durante el desarrollo de los pinópodos, los RP A y B disminuyen su expresión en el epitelio y glándulas endometriales.⁹ Salehnia y cols observaron que luego de la administración de P se desarrollaban los pinópodos en la superficie endometrial de las ratas y que la inyección de esta hormona en ciclos de hiperestimulación ovárica acelera la ventana de implantación, disminuyendo la capacidad de diálogo entre el embrión y el endometrio, y la consecuente falla implantatoria.¹⁰ En contraposición, Rashidi y cols mostraron que en ciclos hiperestimulados la administración de P no aceleraba la maduración del endometrio en ratas.¹¹

El rol de los estrógenos y la expresión de sus receptores tampoco son claros en la formación de los pinópodos. En un estudio, la administración de estrógenos en ratas preñadas resultó en pérdida de los pinópodos endometriales dentro de las 18 horas de exposición.¹²

Sorprendentemente, en otro estudio, ratas ovariectomizadas presentaron un mayor número de pinópodos durante la ventana de implanta-

ción, por lo que probablemente existirían otros mecanismos no asociados a las hormonas esteroideas en el desarrollo de estas células.¹³

El ciclo estral en la rata dura 4 a 5 días; es evidentemente corto si se compara con el ciclo menstrual de la mujer, que es de aproximadamente 28 días. Las características fisiológicas de este período se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de los cambios ováricos, uterinos y vaginales durante el período estral en ratas hembras.

Fase	Ovario	Útero	Vagina	Conducta
Proestro	Crecimiento rápido de folículos. Degeneración de los cuerpos lúteos del ciclo previo.	Útero distendido, con fluido que aumenta su tamaño.	Epitelio grueso. Células epiteliales superficiales. Frotis vaginal con abundancia de células epiteliales.	Estado receptivo a la copulación hacia el final del proestro.
Estro	Maduración de folículos. Ovulación.	Máxima distensión. Inicio de degeneración vacuolar del epitelio uterino.	Epitelio grueso. Capa de células cornificadas en superficie. Frotis vaginal con abundantes células escamosas.	Receptividad máxima. Copulación. Máxima probabilidad de fertilización.
Metaestro	Formación de cuerpos lúteos.	Alguna degeneración vacuolar pero también regeneración.	Descamación del epitelio cornificado. Epitelio delgado. Invasión de leucocitos. Frotis vaginal con abundantes células escamosas	No hay receptividad.
Diestro	Crecimiento de los cuerpos lúteos. Folículos de varios tamaños.	Regeneración del epitelio uterino.	Epitelio delgado. Regeneración del epitelio. Frotis vaginal con abundancia de leucocitos y células epiteliales.	No hay receptividad.

A nivel uterino, el proceso de decidualización del estroma es un componente fundamental para una implantación exitosa. En los roedores este proceso está coordinado por dos eventos básicos: la producción de E2 y P y las interacciones de señalización para la implantación del blastocisto.^{14, 15} La proliferación del estroma endometrial, seguida de la diferenciación en células deciduales está gobernada principalmente por la P.^{16, 17}

En las últimas décadas, la infertilidad femenina ha sido relacionada con factores medioambientales y estilo de vida.¹⁸ Uno de los factores de riesgo frecuentemente asociado es la exposición ocupacional a disruptores endocrinos (DE) químicos^{19, 20} y la exposición directa a pesticidas en las zonas rurales.²¹ Varios estudios muestran una relación entre la disminución de las tasas de fecundabilidad y la exposición a pesticidas comúnmente utilizados en los cultivos.^{22, 13} Esta reducción en la

tasa de fecundabilidad es de gran relevancia y varía entre 20-49%.^{24, 25}

Los receptores nucleares más comúnmente afectados por los DE son: los receptores de estrógenos α y β (RE), receptor de andrógenos (RA), receptores de la hormona tiroidea y receptores de glucocorticoides.

Más recientemente, se ha focalizado la atención en el RP, que parecería tener mayor sensibilidad que los estrogénicos a las acciones de ciertos DE.²⁶ Una inadecuada respuesta a la producción de P debido a alteraciones en los receptores RP A y B podría producir infertilidad, aborto recurrente o proliferación endometrial.²⁷

Roundup Full II[®] es la marca comercial del herbicida forestal de amplio espectro que contiene como principio activo al *glifosato*. Representa el 30% de todos los pesticidas utilizados en agricultura.²⁸ Es un compuesto desarrollado para eliminar