

ESTUDIO PREVIO SOBRE LA ACCION DE LA PGF2a EN LA RATA, EN EL PERIODO DE IMPLANTACION EMBRIONARIA

Por Miguel Abad Gavín

Eduardo Vigil Maeso

Juan Antonio Olmedo Olmedo

INTRODUCCION:

En la actualidad se estima que, para que la implantación del blastocisto tenga lugar en el interior del útero, se precisa que este último adquiera un estado de sensibilidad que ha recibido el nombre de «Estado Óptimo de Receptibilidad endometrial», estado que en la rata se calcula tiene una duración de doce horas, fuera del cual la implantación no es factible (9,19).

El útero adquiere este estado como consecuencia de una acción hormonal denominada por PSICHIOYOS «Secuencia Hormonal Básica de Implantación», consistente en una actuación previa, sobre el útero y durante un tiempo determinado, variable en las distintas especies, de la progesterona, producida por el C. L., seguida de un fallo incompleto de la misma, en la mayor parte de las especies, o definitivo en otras, como en la yegua,¹ fallo que a su vez debe dar paso a la actuación de los estrógenos: «Oleada de Estrógenos de Implantación»,¹⁹ de tal forma que de no producirse esta secuencia, la implantación no se lleva a efecto aun cuando exista un blastocisto, en condiciones de implantación, en el interior del útero. Por tanto, si:

—La preparación uterina previa, debida a la progesterona, no es suficiente.¹⁹

—La acción de la progesterona no recede, en mayor o menor grado, según las especies.^{12 20}

—O la intervención de los Estrógenos no tiene lugar,¹⁹ la implantación fracasará.

Hoy día se estima que esta secuencia hormonal es idéntica a la que determina el paso de diestro a proestro, en el ciclo sexual de las hembras cíclicas y se origina por el fallo funcional del C. L. de ciclo o gestacional.

Ahora bien, a este respecto el mayor problema, hasta el momento, estriba en la identificación del factor determinante del fallo funcional del C. L., para que la acción de la Progesterona, permita o ceda, su predominio a la acción de los Estrógenos sobre el útero.

Varias son las teorías que han explicado, hasta la fecha, este hecho, pero a la vista de los recientes hallazgos se ha llegado a la conclusión de que el fallo funcional del C. L. —por lo menos en su iniciación— se debe a la acción luteolítica de un factor de origen uterino, la denominada luteolisina uterina.^{4,16} Luteolisina uterina que los recientes resultados de las últimas investigaciones en rata,^{7,18} ratona,¹⁴ hamster,¹³ cobaya,² coneja⁶ y oveja,^{3,5} identifican con la Prostaglandina (PG) F_{2a}.

Por tanto, es de capital importancia, para el conocimiento del mecanismo endocrino involucrado en la implantación, el estudio de la acción de la PG F_{2a} en este sentido.

Hasta el momento todos los estudios realizados sobre la acción de esta PG sobre la gestación en hamster,^{8,10} rata,^{7,17} ratona,¹⁵ coneja⁶ y mona,¹¹ han demostrado que la inyección de PGF_{2a}, durante la gestación, conduce a la mortalidad embrionaria y a la reabsorción, o aborto, de los embriones.

Sin embargo parece lógico pensar que la secuencia hormonal necesaria para la implantación (progesterona-estrógenos) se desencadena por la acción de la PGF_{2a}, de la misma forma que parece ocurre en el caso de diestro a proestro.

En nuestro trabajo, estudiamos la acción de la PGF_{2a} durante el período de implantación en la rata, con intención de contribuir al esclarecimiento de la intervención de esta sustancia en tal período.

MATERIAL Y METODOS:

En la presente experiencia se han usado ratas blancas de laboratorio, que hubieran gestado al menos una vez con anterioridad a la experiencia, de 5-6 meses de edad y pesos comprendidos entre los 270 y 417 grs.

En grupos de seis, los animales se enjaularon con machos adultos de fertilidad comprobada. El criterio para diagnosticar la gestación fue el hallazgo de espermatozoides en los frotis vaginales, considerando como día primero de gestación (1.º G), el de la aparición de aquéllos. Establecida la gestación los animales se mantuvieron en jaulas individuales, con alimentación y bebida «standard».

La PGF_{2a}, en forma de sal a-trometamina (U-14583) —proporcionada por el Dr. E. Pike, Upjohn, Kalamazoo, Michigan— disuelta en etanol y agua destilada (9:1), se administró en dosis única de 50 ug, por vía subcutánea, estableciéndose tres grupos experimentales, según el día de inyección:

- Grupo I, PGF_{2a} administrada el día 5.º G, 4 animales
- Grupo II, día 6.º G, 4 animales
- Grupo III, día 7.º G, 4 animales,

manteniéndose seis animales, dos para cada serie, como controles (Grupo C), sin recibir PGF_{2a}.

En el día 11.º G se sacrificaron los animales, por rotura de cuello, practicándose a continuación, laparotomía y extracción del tracto genital completo, a partir del cuello vaginal, manteniéndose dicho tracto en Tyrode hasta su apertura.

En todos los animales, inmediatamente después de su sacrificio, se examinó macroscópicamente el aparato genital, pesándolo y abriéndolo a continuación, longitudinalmente, a lo largo de la línea mesometrial, determinándose en cada caso:

- Peso del útero y su contenido.
- Puntos de implantación.
- Placentación.
- Número y estado de los embriones.

A continuación se realizaron cortes histológicos a nivel de las áreas de implantación, que, teñidos con hematoxilina-eosina, se examinaron microscópicamente. En los casos en que, exteriormente, no se apreció gestación, se realizaron lavados de oviductos y cuernos uterinos, para recogida de posibles embriones degenerados, completándose mediante frotis una vez abiertos. Los ovarios de todos los animales fueron examinados macroscópicamente, clasificándose en cada caso las estructuras presentes, verificadas, posteriormente, mediante examen microscópico.

RESULTADOS:

En las condiciones de la presente experiencia se han obtenido los siguientes resultados:

Según se recoge en los cuadros I y II, el peso medio del útero y su contenido, en los animales tratados, sólo supone el 55,05 % del de los animales controles.

En los animales tratados en los días 6.º y 7.º G, en las áreas de implantación se observaron derrames sanguíneos ocupando todo el polo antimesometrial, en cada uno de los animales (fotografía n.º 1). En uno de los animales tratados en el día 6.º G (fotografías 2 y 3) y precisamente en el único cuyos cuernos uterinos se encontraban completamente ocupados por quince embriones, el derrame sanguíneo se extiende por todo el útero, alcanzando, incluso, la grasa mesometrial, formando acúmulos en la misma. El tracto genital de todos los animales tratados aparece congestionado con amplia repleción, tanto del sistema arterial como venosa (fotografía n.º 4).

Abiertos los cuernos uterinos de todos los animales pertenecientes a los Grupos II y III (fotografías 5, 6 y 7), los embriones presentaban externamente aspecto hemorrágico (fotografía n.º 8, animal control), al parecer continuación del hematoma que se encuentra entre ellos y la pared uterina, en los puntos de implantación, siendo el número de embriones definitivamente inferior al existente en los animales controles (sólo el 3,93 %). En los animales del Grupo I, la observación externa del apa-

Grupo	Animal	Peso (g)	Día tras el parto	PGF _{2a}	Peso Uterino y contenido (g)	Número de embriones	Embriones anormales	C. L.	C. R.	F.
C	1	375	—	—	1,756	12	—	12	—	—
	2	417	—	—	2,148	13	—	13	—	—
	3	No gestante	—	—	1,203	10	—	21	—	—
	4	358	—	—	1,225	8	—	11	—	—
	5	296	—	—	1,287	17	—	26	—	—
	6	333	—	—	—	—	—	—	—	—
	7	345	5.º G	50 µg	0,790	—	4	8	—	—
	8	312	5.º G	50 µg	0,812	—	—	10	—	21
	9	407	5.º G	50 µg	0,913	—	—	9	6	2
	10	298	5.º G	50 µg	0,753	—	1	12	—	—
II	11	348	6.º G	50 µg	1,131	15	—	16	—	10
	12	280	6.º G	50 µg	0,718	—	—	19	8	5
	13	No gestante	6.º G	50 µg	0,612	—	—	10	—	16
	14	298	6.º G	50 µg	—	—	—	—	—	—
	15	271	7.º G	50 µg	0,872	3	—	12	—	12
	16	356	7.º G	50 µg	0,828	4	—	11	3	16
	17	372	7.º G	50 µg	0,701	—	—	18	—	9
	18	318	7.º G	50 µg	0,917	2	—	—	—	18
	19	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—
III	21	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	22	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	23	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	24	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	26	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	27	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	28	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	29	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	30	—	—	—	—	—	—	—	—	—

CUADRO N.º I

Grupo	N.º animales	Peso corporal medio PC, en gramos	Peso uterino medio PU, en gramos	PU/PC	N.º embriones	C. L.	C. R.	F.
C	5	348	1,524	0,0043	60	102	—	1
I	4	340	0,867	0,0020	—	39	9	32
II	3	309	0,320	0,0026	17	45	8	31
III	4	327	0,829	0,0025	9	51	5	46

CUADRO N.º II

rato genital no denotaba gestación (fotografía n.º 9), no obstante en dos de estos animales se recogieron, por lavado de ambos cuernos uterinos, 1 y 4 embriones degenerados, respectivamente. Abiertos los cuernos uterinos no se identificó ningún punto de implantación.

El examen microscópico de los cortes practicados a la altura de los puntos de implantación, en los úteros de los animales de los Grupos II y III puso en evidencia una neta separación entre la capa muscular uterina y la decidua, especialmente en su porción antimesometrial, donde el espacio formado por tal separación se halla ocupado por un coágulo sanguíneo perfectamente apreciable, cuyos bordes se prolongan entre ambas estructuras (fotografía 10, 11).

El examen macro y microscópico de los ovarios de los animales tratados reveló la existencia en ellos de tres clases de formaciones (fotografía n.º 12) consistentes en: Cuerpos lúteos netos, considerados como C. L. de gestación, en algunos de los cuales se han apreciado cambios degenerativos en sus células luteínicas, cuerpos lúteos de nueva formación, considerados como cuerpos rubrums (C. R.) y folículos desarrollados.

Las pequeñas dosis de PGF_{2a} usadas en la presente experiencia se han mostrado eficaces en la determinación del fenómeno de antifertilidad, señalado para esta sustancia (7,17), sin haberse comprobado con estas dosis ningún caso de muerte, como ocurre en otras especies, con distintas dosis,⁶ ni efectos colaterales, como los descritos por NUTTING-CAMARATTA¹⁷ en la rata.

DISCUSION:

De los resultados de la presente experiencia se comprueba que la inyección de una dosis única de 50 µg de PGF_{2a} en ratas gestantes, y durante el período de implantación embrionaria, origina interrupción de la gestación, lo que corrobora los resultados anteriores en el mismo sentido.^{7,17}

Las lesiones hemorrágicas observadas en las hembras inyectadas en los días 6.º y 7.º G, tiempo en que se ha iniciado la implantación, parecen demostrar que la interrupción de la gestación se debe a la intensa contracción miometrial originada por la inyección de PGF_{2a}, la que, por determinar un gran derrame hemático entre la capa muscular uterina y la decidua, destruye las conexiones feto-maternales haciendo fracasar la gestación en la época de la implantación.

De igual forma cabría interpretar el menor número de embriones comprobados en la mayor parte de los animales tratados, como una eliminación de los no implantados, por una acción estimulante de la contracción uterina, eliminación que en caso de las ratas tratadas en el día 5.º G de gestación parece ser total, debido a que en este momento el blastocisto se encuentra todavía libre en el útero.

Así mismo la importancia de efecto antigestacional, por acción mecánica o traumática de la PGF_{2a}, parece estar apoyada también por la presencia de C. L. de nueva formación en los ovarios de los animales tratados, los que, de no haber una movilización embrionaria, quizás fueran capaces de mantener la gestación, pues en la rata, según ha demostrado KRAIZER,¹² la extirpación de los C. L. en el momento de la implantación no afecta la continuación de la gestación, ya que se forman rápidamente otros C. L. que la preservan.

Por tanto, se considera que la acción luteolítica de la única dosis empleada, y además tan pequeña, de PGF_{2a}, especialmente en los Grupos II y III y dada la rapidez de acción de esta PG, es en nuestro concepto de escasa importancia como efecto antigestacional en el momento de la implantación, época en la que, como han demostrado WITTENBERG-TORRES y col.²⁰ en el caso de la oveja, la Progesterona no parece ser esencial.

Además, la presencia de dos clases de C. L., en los ovarios de las ratas tratadas, a pesar de la existencia de C. L. primarios de gestación con cierta degeneración lútea, presupone un fallo pasajero y no total en la producción de Progesterona.

No obstante, de los resultados de este trabajo parece deducirse que la dosis usada de PGF_{2a} produce, todavía, un excesivo incremento de Factor Luteolítico Uterino, en el momento de la implantación, que conduce a crecimiento folicular apreciable, dehiscencia y formación de nuevos C. L., en el momento de la implantación, crecimiento que en la rata gestante no tratada es inapreciable, a diferencia de lo que ocurre en otras especies.

En consecuencia se estiman necesarias nuevas experiencias en este sentido.

RESUMEN:

Se estudia la acción de la PGF_{2a}, en dosis única de 50 ug, durante el período de implantación, en la rata, en la que se encuentra produce interrupción de la gestación, debido a la intensa contracción miometrial que produce tal sustancia, destruyendo las conexiones feto-maternales.

RESUME

On étudie l'action de la PGF_{2a}, a une dose unique de 50 ug, pendant le période d'implantation, chez la rat, arrêtant la gestation par l'intense contraction utérine provoqué par telle substance que détruits les connexions feto-maternelles.

SUMMARY

The action of the PGF_{2a} —at one single dose of 50 ug— at the implantation time, on the rat, provoking the cessation of pregnancy, is given, estimating this action is due to the intense contraction induced by PGF_{2a}, abolishing the fetus-maternal connections.

BIBLIOGRAFIA

1. AMOROSO, B. C. (1969): Physiological mechanisms in reproduction. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 6: 5-18.
2. BLATCHLEY, F. R., DONOVAN, B. T. (1969): Luteolytic effect of PGF_{2a} in the guinea-pig. *Nature*, vol 321, March 15.
3. CAIN, M. D., CERINI, J., CHAMLEY, W. A., CUMMING, I. A. (1972): PGF_{2a} «the» luteolytic hormone in the ewe. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.*, *J. Reprod. Fert.*, vol 28, n.º 1.
4. CLADWELL, B. N., ROWSON, L. B. A., MOOR, R. M., HAY, M. P. (1969): The útero-ovarian relationships and its possible role in fertilit. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 8 : 59-76.
5. CHAMLEY, W. A., BROWN, J. M., CAIN, M. D., CERINI, J. C., CERIN, M. E. D., CUMMING, M. A., GODING, J. R., KRASC, C (1972): Luteolysis following intra-arterial infusion of PGF_{2a} directly into the ovine auto-transplanted ovary. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., J. Reprod. Fert.*, vol 28, n.º 1.
6. CHANG, M. C., HUNT, D. M. (1972): Effect of PGF_{2a} on the early pregnancy of rabbit. *Nature*, vol 236, n.º 5342.
7. GUTKNECHT, G. D., CORNETTE, J., PHARRYS, B. B. (1969): Antifertility properties of PGF_{2a}. *Biol. Reprod.* 1, 369.
8. GUTKNECHT, G. D., WINEGARDEN, L. J., PHARRYS, B. B. (1971): The effect of PGF_{2a} on ovarian and plasma progesterone levels in the pregnant hamster. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 336, 1151-57.
9. HAUMPHREY, K. W. (1968): The effects of some-antiestrogens on the deciduomata reaction and delayed implantation in the mouse. *J. Reprod. Fert.*, 16: 201.
10. JOHNSON, J. C., HUNTER, K. K. (1970): PGF_{2a} mode of action in pregnant hamster. *Physiologist.* 13, 235.
11. KIRTON, K. T., PHARRYS, B. B., FORBES, A. D. (1970): Some effects of PGF_{2a} and PGE₂ on pregnant Rhesus monkeys. *Biol. Reprod.*: 3: 163-65.
12. KRAIZER, P. P. (1969): Studies on the effect of nidation. Effect of the removal of C. L. on ovo-implantation and pregnancy in the rat. *J. Reprod. Fert.* 18, 75-80.
13. LABHSEWAR, A. P. (1971): Luteolytic and ovulation properties of PGF_{2a} in the hamster. *Nature*, 230, 528.
14. LABHSEWAR, A. P. (1972): Luteolytic and ovulation inducing properties of PGF_{2a} in pregnant mice. *J. Reprod. Fert.*, vol 28.
15. MARLEY, F. B. (1972): Effects of PGs F_{2a}, E₂, and E₁ on fertility in mice. *Nature New Biology*, vol 235, Feb 16.
16. McCracken, J. A., CALDWELL, N. N. (1969): C. L. maintenance in ewe with one congenitally absent uterine horn. *J. Reprod. Fert.*, 20: 139-41.
17. NUTTING, E. F., CAMARATTA, P. S. (1969): Effects of PGs on fertility of female rats. *Nature*, vol 222, April 19.
18. O'SHEA, J. D., LEE, C. S. (1972): local uterine luteolysis in the rat. *J. Reprod. Fert.*, vol 28 (1).
19. PSYCHOYOS, A. (1966): Egg Implantation. *Ciba Fdn.*, Eds. Wobstenholme & O'Connors. Boston.
20. WITTENBERG-TORRES, S., ROMBAIS, F. (1968): Relation entre la mortalité embryonnaire et la quantité de progesterone secrété chez la brebis. *Vº Cong. Int. Reprod. Anim. et I. A.*, vol I, París.



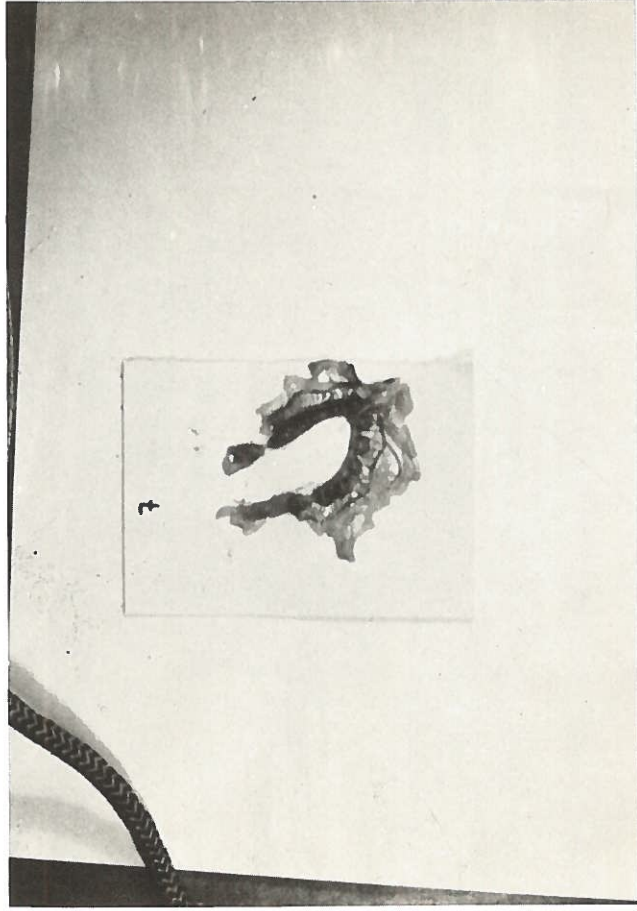
Fotografia n.º 1



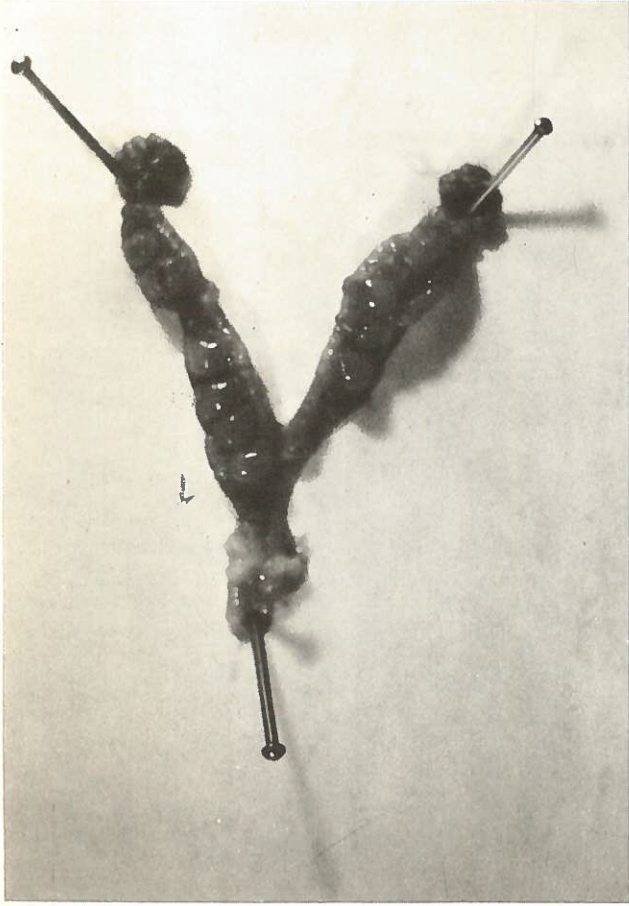
Fotografia n.º 2



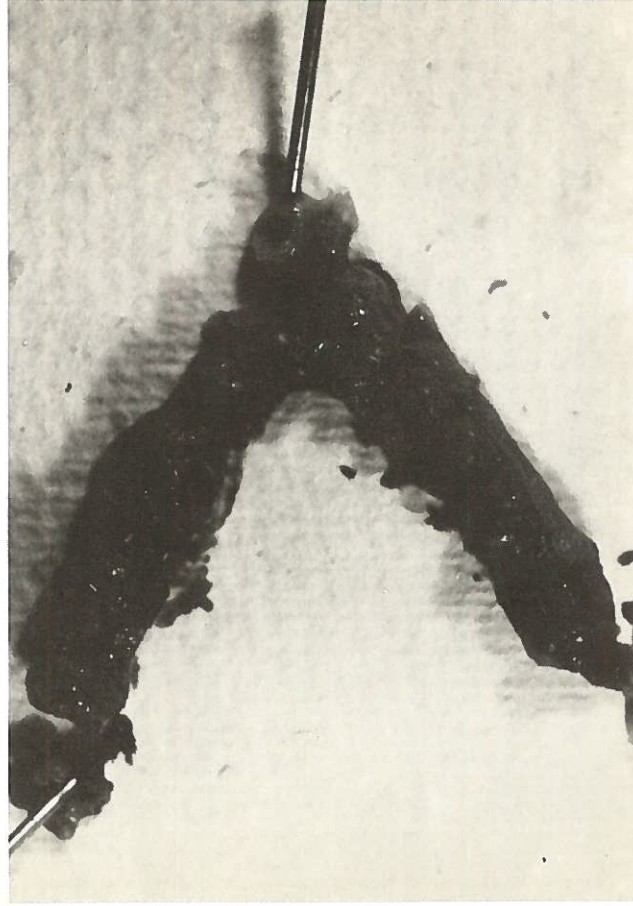
Fotografia n.º 3



Fotografia n.º 4



Fotografia n.º 5



Fotografia n.º 6



Fotografia n.º 7



Fotografia n.º 8



Fotografía n.º 9

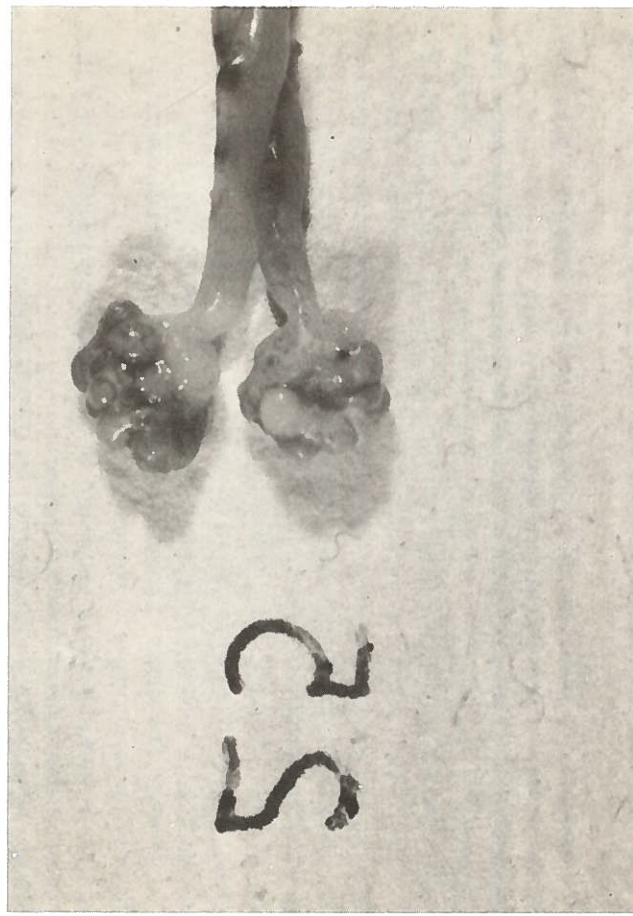


Fotografía n.º 10

— 582 —



Fotografía n.º 11



Fotografía n.º 12

— 583 —