

INHIBICION DEL EFECTO ANTIFERTILIDAD DE LA PROSTAGLANDINA F_{2a} EN LA RATA MEDIANTE PROGESTERONA.

Por *Miguel Abad Gavín*
Eduardo Vigil Maeso
Juan Antonio Olmedo Olmedo

En una experiencia anterior establecimos el efecto de la PGF_{2a}, administrada en dosis única de 50 µg, sobre la implantación en la rata, encontrando que su efecto sobre la nidación podía achacarse, casi por completo, a la estimulación que determina sobre la contractibilidad uterina con consecuente expulsión de los embriones,¹ registrándose en menor grado un efecto directo sobre ovario, conducente a luteolisis, avalado por los resultados de otros autores y no sólo en esta especie.^{2,3,6,7}

Con objeto de determinar el posible papel inhibitorio de la Progesterona sobre las acciones de la PGF_{2a}, en esta época (= efecto antifertilidad por aumento de las contracciones uterinas y, en inferior nivel, por luteolisis), se programó la presente experiencia, administrando, junto a la PGF_{2a}, Progesterona, subcutáneamente y en suspensión oleosa, pretendiendo dilatar su absorción, en forma tal que su efecto se superpusiera al de la PGF_{2a}.

En la presente experiencia se han usado ratas blancas de laboratorio de 5-6 meses de edad que hubieran gestado, al menos una vez, con anterioridad a la experiencia, siendo esta gestación y camadas resultantes, normales.

En grupos de seis las ratas se enjaularon con machos adultos, de fertilidad comprobada.

El criterio adoptado para diagnosticar la gestación fue el hallazgo de espermatozoides en los frotis vaginales efectuados en las hembras, considerando como día primero de gestación (1º G) el de la aparición de aquéllos. Establecida la gestación, las ratas se mantuvieron en jaulas individuales con alimentación y bebida standard.

Las ratas gestantes se dividieron en dos grupos experimentales:

Grupo A, aquellas que recibieron, exclusivamente, PGF_{2a}, en forma de sal a-trometamina (U-14583), disuelta en etanol y agua destilada (9 : 1), administrada

en dosis única de 50 µg, por vía subcutánea, estableciéndose tres grupos, según el día de inyección:

A1: PGF2a administrada el día 5.º G

A2: 6.º G

A3: 7.º G

Grupo B: aquellos animales que recibieron, un día antes de la administración de PGF2a, una dosis única de 2 mg de Progesterona (Proluton-Schering), en suspensión oleosa, por vía subcutánea, estableciéndose así mismo tres subgrupos de acuerdo con los días de administración:

B1: Progesterona día 4.º G PGF2a 5.º G

B2: 5.º G 6.º G

B3: 6.º G 7.º G

Además, se mantuvieron 12 animales, dos para cada subgrupo, como controles (Grupo C), sin recibir ningún tipo de tratamiento.

En el día 11º G los animales se sacrificaron, por rotura de cuello, practicándose a continuación laparotomía y extracción del tracto genital completo, a partir del cuello vaginal, manteniéndose dicho tracto en Tyrode, a 37º C.

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

—Puntos de Implantación.

—Placentación.

—Número y estado de los embriones.

Realizándose 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 esta recogida, una vez abiertos los cuernos, por medio de frotis.

Los ovarios de todos los animales, fueron examinados macroscópicamente, clasificándose, en cada caso, las estructuras observadas, verificadas posteriormente, mediante examen microscópico (tinción hematoxilina-eosina).

En el subgrupo B₃ y durante su manipulación escapó uno de los animales, no pudiendo recuperarse hasta pasado el día 11º G, siendo eliminado como animal experimental, quedando reducido este subgrupo a cinco animales.

En las condiciones descritas para la presente experiencia, los resultados obtenidos son los siguientes:

A) En los animales que recibieron exclusivamente PGF2a, en los días 5.º, 6.º ó 7.º G, se confirman los resultados obtenidos en nuestra anterior experiencia,¹ que en el caso actual son los siguientes:

1. En los animales tratados en el día 5.º G no se observó, en ninguno de ellos gestación posterior.

2. En los animales tratados en el día 6.º G, el porcentaje de ratas gestantes fue del 83,3 %, con un total de 26 embriones, lo que supone una media de 5,2 embriones/rata gestante, localizados, en la mayoría de los casos (foto n.º 1) en la porción del cuerno uterino inmediata al cuerpo del útero, con evidentes signos de degeneración y siendo de señalar que, normalmente, uno de los cuernos aparece absolutamente vacío o con algún embrión precisamente localizado en la conjunción cuerno-cuello uterino y siempre en vías de degeneración.

3. Entre los animales tratados en el día 7.º G sólo uno de los animales presenta embriones, en número de cuatro, situados en el extremo del cuerno y en estado de degeneración (fotos n.º 2 y 3).

Así mismo todos los animales pertenecientes a este grupo experimental presentan lesiones hemorrágicas, como las descritas en el trabajo anterior,¹ consistentes en:

—Derrame sanguíneo ocupando, en las áreas de implantación, todo el polo antimesometrial, junto con intensa congestión tanto del sistema arterial como venoso.

—Separación entre capa muscular uterina y decidua, ocupando este espacio un coágulo sanguíneo, más o menos organizado (foto n.º 4).

En lo que se refiere al ovario de estos animales aparecen las tres formaciones anteriormente señaladas:¹

C. L. recientes, considerados como cuerpos Rubrums.

C. L. de gestación, en estado de degeneración.

Folículos desarrollados.

B) Por lo que respecta a los animales que recibieron junto a la PGF2a (días 5.º, 6.º y 7.º G) una inyección, previa de Progesterona (días 4.º, 5.º y 6.º G, respectivamente), los resultados alcanzados son:

1. Los que recibieron Progesterona el día 4.º G y PGF2a el 5.º G, dieron embriones en el 33,3 % de los casos, con un total de 14 embriones y una media de siete embriones/rata gestante, totalmente hemorrágicos y degenerados, en todos los casos (foto n.º 5).

2. Los inyectados en el día 6.º G con PGF2a (Progesterona día 5.º G) el porcentaje de hembras con embriones fue del 83,3 %, (tanto por ciento idéntico que el producido en el subgrupo A2, que recibió exclusivamente PGF2a en el día 6.º G). El número de embriones recogidos fue de 48, lo que supone 9,6 embriones/rata gestante.

En las hembras en las que uno de los cuernos presenta pocos embriones (de 1 a 3), el otro cuerno se encuentra vacío. Cuando el número de embriones hallados en uno de los cuernos es superior (9 ó 10), el otro cuerno presenta 1 ó 2 embriones y éstos en las proximidades de la unión cuerno-cuerpo del útero (foto n.º 6).

En ambos subgrupos descritos, todos los embriones eran hemorrágicos presentando signos degenerativos, equiparables a los presentes en los animales tratados exclusivamente con PGF2a (foto n.º 7).

3. Los tratados con PGF2a en el día 7.º G (Progesterona en el día 6.º G) se

encontraron gestantes en el 100 % de los casos, con un número total de embriones de 58, lo que supone 11,6 embriones/rata. En este subgrupo las lesiones hemorrágicas son de escasa importancia, en relación con el resto de los animales tratados (foto n.º 8).

En lo que concierne a los ovarios de las hembras pertenecientes a este grupo, las correspondientes a los subgrupos B1 y B2, presentan las mismas formaciones que las del grupo A (C. Rubrums, C. Láteos en degeneración y Folicúlos). Las del subgrupo B3 (Progesterona día 6.º G y PGF2a día 7.º G), presentan C. L. de gestación acompañados, eventualmente, de pequeños folicúlos en dos de los animales (1 y 2 folicúlos, respectivamente), hecho que, por otra parte, se produce también en los animales controles.

C) En los 12 animales mantenidos como controles, sin recibir ningún tipo de tratamiento, se recogieron embriones en once de ellos (91 %), con un total de 135 embriones, es decir 12,2 embriones/rata gestante, presentando los ovarios C. L. de gestación y en dos de los animales 1 y 2 folicúlos, respectivamente.

(En los cuadros 1 a 5 se recogen los resultados obtenidos en la presente experiencia, para cada grupo de animales y comparativamente entre ellos).

Como hipótesis que pueda explicar los resultados obtenidos en la experiencia descrita se sugiere que, en el caso del subgrupo A1, en el que los blastocistos aún están libres en el interior del útero, el aumento de contracciones uterinas, determinado por la PGF2a, se traduce por la expulsión de todos ellos.

CUADRO N.º 1

Grupo A, animales que recibieron, exclusivamente, PGF2a

Subgrupo	Día PGF2a	Gestación	N.º embriones	CL	CR	F
A1	5.ºG	No	—	12	12	14
	5.ºG	No	—	8	4	10
	5.ºG	No	—	5	26	—
	5.ºG	No	—	7	23	—
	5.ºG	No	—	15	4	4
	5.ºG	No	—	10	20	—
A2	6.ºG	Si	2	15	2	1
	6.ºG	Si	5	8	9	—
	6.ºG	Si	3	21	—	20
	6.ºG	Si	14	15	25	—
	6.ºG	No	—	—	—	—
	6.ºG	Si	2	5	25	12
A3	7.ºG	No	—	20	—	—
	7.ºG	No	—	9	20	—
	7.ºG	No	—	9	22	4
	7.ºG	Si	4	13	38	—
	7.ºG	No	—	7	11	9
	7.ºG	No	—	12	20	—

CUADRO N.º 2
Grupo B, animales que recibieron PGF2a y Progesterona

Subgrupo	Día prost.	Gestación	N.º embrio- nes	CL	CR	F
B1	4.ºG	5.ºG	Si	14	9	12
	4.ºG	5.ºG	No	10	9	14
	4.ºG	5.ºG	Si	3	12	6
	4.ºG	5.ºG	No	9	—	35
	4.ºG	5.ºG	No	8	16	6
	4.ºG	5.ºG	No	10	12	10
B2	5.ºG	6.ºG	Si	12	8	—
	5.ºG	6.ºG	No	4	24	—
	5.ºG	6.ºG	Si	5	16	25
	5.ºG	6.ºG	Si	6	—	1
	5.ºG	6.ºG	Si	14	7	—
	5.ºG	6.ºG	Si	11	20	13
B3	6.ºG	7.ºG	Si	16	14	—
	6.ºG	7.ºG	Si	4	15	2
	6.ºG	7.ºG	Si	18	—	—
	6.ºG	7.ºG	Si	13	20	1
	6.ºG	7.ºG	Si	7	—	—
	6.ºG	7.ºG	Si	26	—	—

CUADRO N.º 3
Grupo C, animales controles

N.º animal	Gestación	N.º embriones	CL	CR	F
1	Si	12	16	—	—
2	Si	13	18	—	—
3	Si	9	15	—	2
4	No	—	—	—	—
5	Si	14	19	—	—
6	Si	10	20	—	—
7	Si	12	18	—	—
8	Si	11	17	—	—
9	Si	11	15	—	—
10	Si	14	22	—	1
11	Si	16	18	—	—
12	Si	13	16	—	—

CUADRO N.º 4
Resultados comparativos obtenidos en los animales controles y ambos grupos experimentales.

Grupo	N.º de ratas	Día de prost.	Día de N.º gestantes PGF2a	% gestantes	Número embriones	E/R	CL	CR	F
C	12	—	—	11	91,6	135	12,2	194	—
A1	6	—	5.ºG	0	0	0	57	89	3
A2	6	—	6.ºG	5	83,3	26	5,2	64	28
A3	6	—	7.ºG	1	16,6	4	70	111	33
B1	6	4.ºG	5.ºG	2	33,3	14	7	56	83
B2	6	5.ºG	6.ºG	5	83,3	48	9,6	61	59
B3	5	6.ºG	7.ºG	5	100	58	11,6	86	3

Resumen comparativo resultados animales controles y experimentales

Grupo	C	A	B
Gestantes			
Embriones	91,6 %	33,3 %	72,2 %
CL	135	30	120
CR	194	191	203
F	—	261	117
	3	74	122

En el caso del subgrupo A2 los blastocistos, que se encuentran localizados sobre los lugares de virtual implantación, sufren la acción de la PGF2a, intensa pero fugaz, determinando la expulsión de parte de ellos (83,3 % animales gestantes y 5,2 embriones/rata), al parecer los más próximos al cuerpo del útero, en tanto que los más próximos al ovario, no llegan a ser expulsados, conservando su capacidad de implantación en un útero todavía en estado óptimo de receptibilidad,^{4 10} de forma que algunos de los embriones no expulsados, pero que por efecto de las contracciones hayan descendido hasta las proximidades del cuerpo del útero, pueden implantarse, aun- que su posterior supervivencia queda comprometida. Así se explicarán de una parte la localización y degeneración de los embriones y de otra las lesiones hemorrágicas registradas en estos animales.

En lo que concierne al subgrupo A3, con los blastocistos ya implantados la acción de la PGF2a se traduce entonces en un desprendimiento total embrionario (sólo un animal gestante en este subgrupo) y los embriones que eventualmente puedan permanecer degeneran posteriormente, por completo: en el único animal en el que se hallan embriones se presentan sólo cuatro de éstos, pero en completo estado de reabsorción (fotos n.º 2 y 3).

Estos resultados están de acuerdo con la acción antifertilidad atribuida a la PGF2a^{2,3,5,6,7,8}, en ésta y otras especies.

En el subgrupo B1, la acción de la Progesterona, aún cuando pueda disminuir¹⁰ las contracciones uterinas, no es suficiente para contrarrestar, por completo, el aumento de contractibilidad uterina inducida por la PGF2a, lo cual, unido al hecho de que los blastocistos se encuentran libres en el interior del útero, da como resultado la casi expulsión de aquéllos (dos animales gestantes, 14 embriones degenerados) y la interferencia en la implantación y posterior desarrollo de los no expulsados.

En el caso del subgrupo B2 se produce la misma situación que en el caso del subgrupo A2, pero la acción inhibitoria de la Progesterona, que determina una menor contracción uterina, se traduce en una mayor implantación embrionaria: 48 embriones (9,6 embriones, 11,6 embriones/rata), en términos sensiblemente iguales a los registrados en los animales controles (12,2 embriones/rata).

En conclusión, puede razonablemente admitirse que:

1. La inyección de PGF2a, en las dosis usadas, determina la expulsión de todos los embriones cuando se inyecta en el día 5º G y que la inyección de Progesterona, en el día anterior a la aplicación de la PGF2a (4º G) disminuye esta eliminación de embriones, pero no evita la interferencia con la implantación y degeneración subsecuente.
2. En estos resultados no se comprueba diferencia entre las ratas inyectadas con PGF2a en el día 6º G y aquellas que previamente (día 5º G) recibieron una inyección de Progesterona, aún cuando se aprecia una eliminación no tan drástica de embriones, que afecta más a uno de los cuernos, se pone de manifiesto, que aunque la expulsión no sea completa el desprendimiento del complejo embrionario conduce a la degeneración posterior de los remanentes.
3. Con respecto a los resultados obtenidos cuando la Progesterona se inyecta en el día 6º G y la PGF2a en el 7º G, y como consecuencia del número de hembras gestantes y número y estado de los embriones registrados, se comprueba que la Progesterona, inyectada en esta fecha, anula la acción antifertilidad de la PGF2a, y disminuye la extensión e importancia de las lesiones hemorrágicas que se presentan debido a la inyección, exclusiva, de PGF2a, en el mismo día (7º G).

Los autores agradecen al Dr. E. PIKE (Upjohn C. Kalamazoo. Michigan) el haberles proporcionado la PGF2a necesaria para este trabajo.

RESUMEN:

Se estudia la inhibición del efecto antifertilidad de la PGF2a, en la rata, en dosis única de 50 µg, en la época de implantación, mediante la administración de 2 mg. de Progesterona el día anterior al tratamiento con PGF2a, encontrando que cuando se proporciona la Progesterona el día 6º de gestación (PGF2a en el día 7º de gestación) permite la supervivencia embrionaria en todos los animales tratados, estimando que la acción de la Progesterona se debe a una disminución de la contractibilidad uterina inducida por la PGF2a.

RESUME:

On étudie l'inhibition de l'effet anti-fertilité de la PGF2a, chez la rat, avec une dose unique de 50 µg, à l'époque de la implantation, par la administration de 2 mg de Progesterone le jour antérieur au traitement avec la PGF2a. On trouve que quand on donne la Progesterone le jour 6ème de gestation (PGF2a jour 7ème) elle permet la survie des embryons dans tous les cas, estimant que l'action de la Progesterone devienne d'une diminution des contractions uterines provoqués par la PGF2a.

SUMMARY:

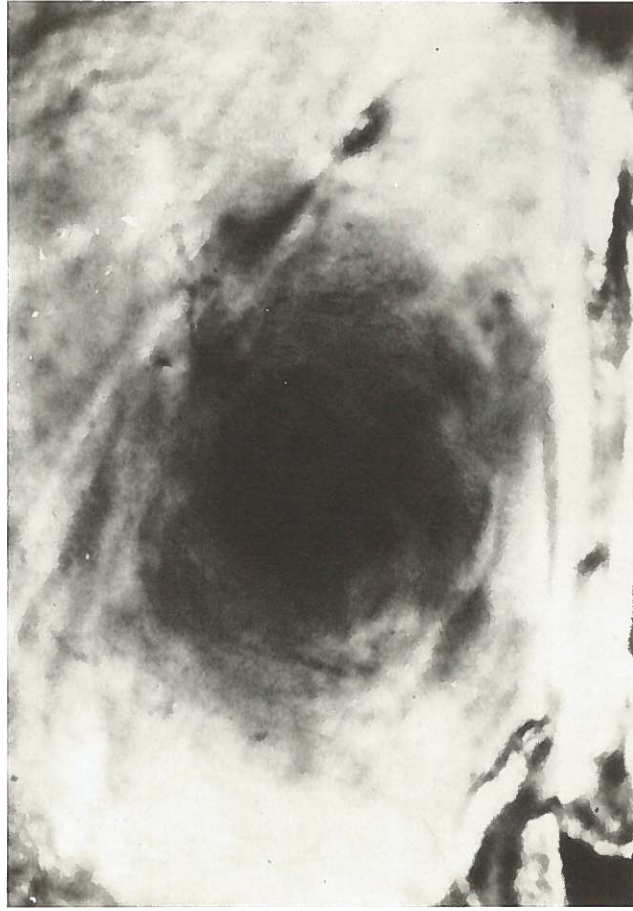
The inhibition of the PGF_{2a} antifertility effect (at one single dose of 50 ug at the implantation time) by the Progesterone (2 mg) in the previous day to the PGF_{2a} administration, is given. We found that the Progesterone at the 6th day of pregnancy (PGF_{2a} at the 7th day) permits the embryos survival in all the cases and that this action is due to the uterine contractions abolished by the Progesterone.

BIBLIOGRAFIA

1. ABAD, M. VIJIL, E., OLMEDO, J. (1972): Estudio previo, de la acción de la PGF_{2a} en la rata, en la época de implantación embrionaria. *Acta Ginecológica Española* (En prensa).
2. CHANG, M. C., HUNT, D. M. (1971): Effect of PGF_{2a} on the early pregnancy of rabbit. *Nature*, vol 236, n.º 5342.
3. GUTKNECHT, G. D., CORNETTE, J., PHARRYS, B. B. (1969): Antifertility properties of PGF_{2a}. *Biol. Reprod.* 1, 369.
4. HUMPHREY, K. W. (1968): The effects of some anti-strogens on the deciduomata reaction and delayed implantation in the mouse. *J. Reprod. Fert.* 14, 201-209.
5. JONHSON, J. C., HUNTER, K. K. (1970): PGF_{2a} mode of action in pregnant hamster. *Physiologist*, 13, 235.
6. KIRTON, K. T., PHARRYS, B. B., FORBES, A. B. (1970): Some effects of PGs F_{2a}, E₁ and E₂ on pregnant Rhesus monkeys. *Biol. Reprod.*, 3: 163-65.
7. MARLEY, P. B. (1972): Effects of PGs E₁, E₂ and F_{2a} on fertility in mice. *Nature New Biology*, vol. 235, Feb. 16.
8. NUTTING, E. F., CANIMARATTA, P. S. (1972): Effects of PGs on fertility od female rats. *Nature* vol 28 (1).
9. PORTER, D. G., BEHRMAN, H. R. (1971): PG-induced myometrial activity inhibited by progesterone. *Nature*, vol 232, Aug 27.
10. PSYCHOYOS, A. (1966): Egg implantation. Ciba Fdn. Eds. Wobstenholme O'Connors. Boston.
11. SANBERG, F., INGELMAN-SUNDBERG, A., RYDEN, G. (1967): Proc. 5rd World Congr. Fert. Steril., 675 (Excerpta Medica Fd. Amsterdam).



Fotografía n.º 1



Fotografía n.º 2



Fotografia n.º 3

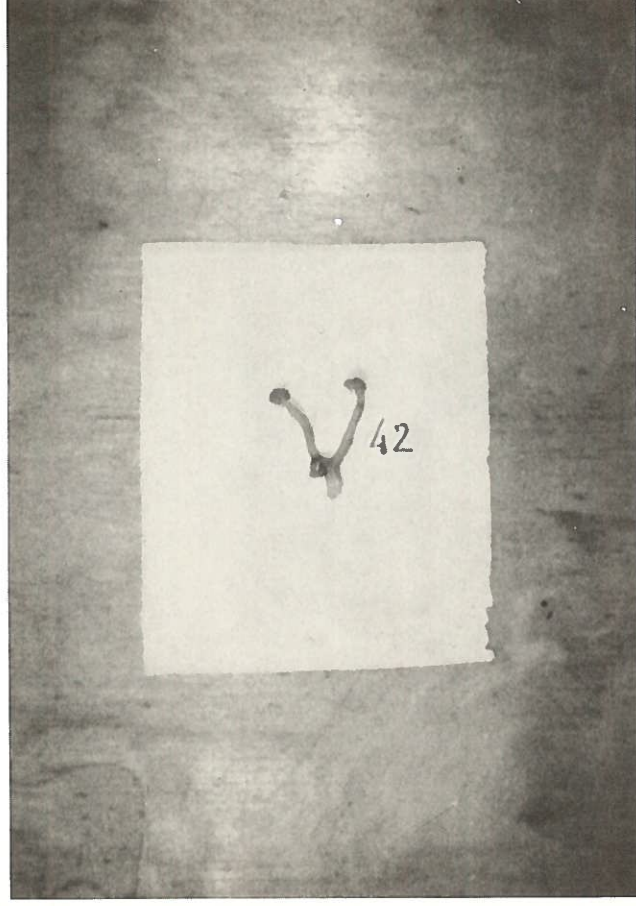


Fotografia n.º 4

— 600 —

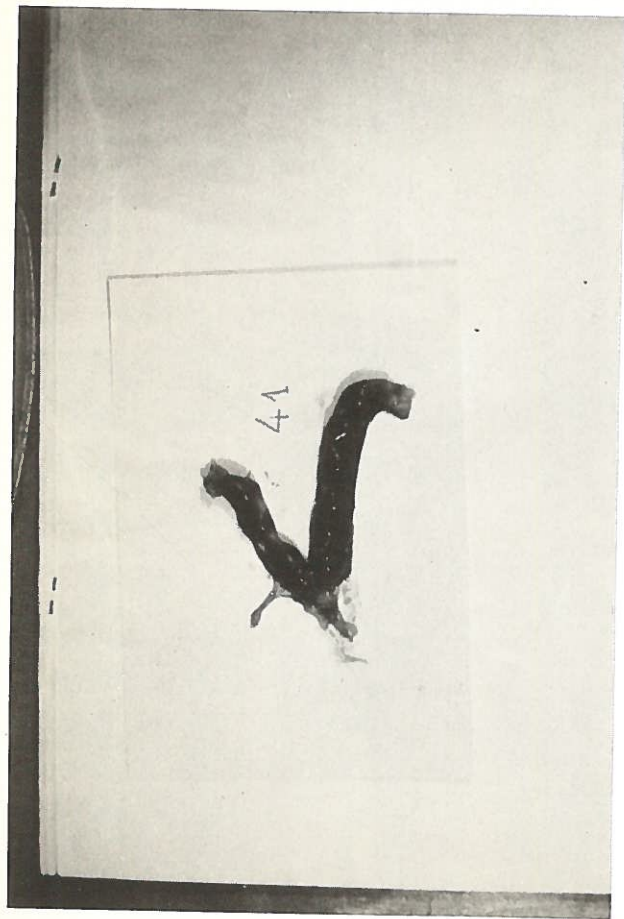


Fotografia n.º 5

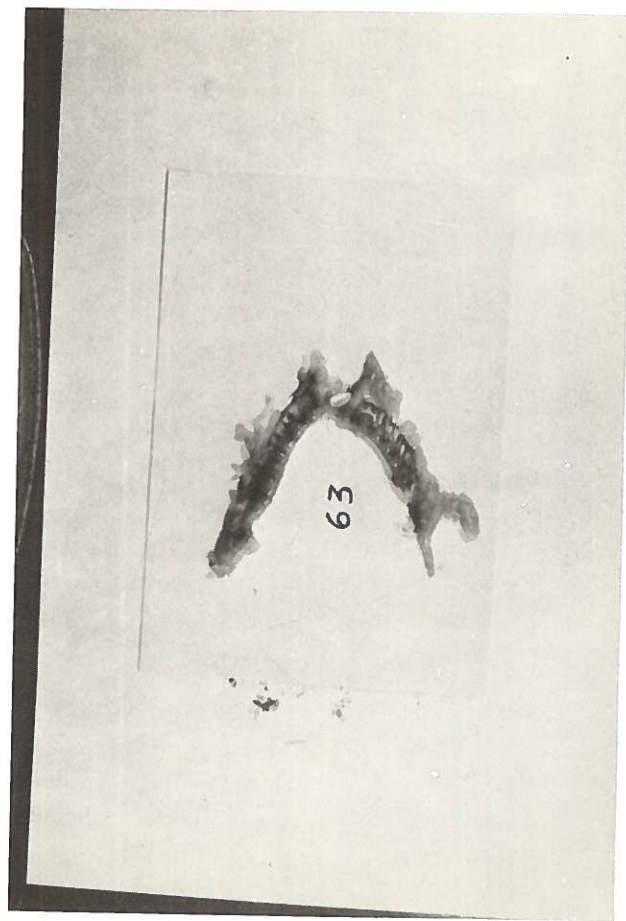


Fotografia n.º 6

— 601 —



Fotografia n.º 7



Fotografia n.º 8