

## Efecto de la copulación sobre la maduración folicular y ovulación en la rata

J. Marcó \*, J. Jiménez-Vargas y N. Guindo

Departamento de Investigaciones Fisiológicas  
Sección de Fisiología Aplicada  
C.S.I.C.  
Pamplona

(Recibido el 7 de octubre de 1980)

J. MARCO, J. JIMENEZ-VARGAS and N. GUINDO. *Effect of Copulation on the Follicular Development and Ovulation in Rat*. Rev. esp. Fisiol., 37, 285-294. 1981.

The follicular development, ovulation and position of the oocytes in the stretched tubes at different phases and times of the rat's ovaric cycle, and the effect of different conditions of copulation on these processes have been studied.

With copulation from the 16<sup>th</sup> hour of diestrus to the 16<sup>th</sup> hour of proestrus, the number of large follicles, follicles total, and oocytes plus follicles increased significantly. With copulation from the 10<sup>th</sup> hour of proestrus to the 10<sup>th</sup> hour of estrus, the number of oocytes, small follicles and follicles total increased significantly. Copulation, therefore, facilitates the processes of follicular development and ovulation.

En especies de ovulación cíclica, la ovulación refleja es un hecho experimental (3, 11, 14, 16, 24, 25, 27, 30). En la rata se han observado ovulaciones reflejas por excitación vaginal artificial (8), por la cópula (3, 22), por estímulos nerviosos sobreañadidos (1, 16), o por estimulación de estructuras centrales (9, 10, 12). La cópula es capaz de neutralizar el efecto inhibitor de algunos fármacos sobre la ovulación (11, 14, 16, 21, 26) y aumenta las concentraciones plasmáticas de hormonas como la progesterona (2),

la prolactina (8), la LH (11, 27, 30) y la FSH (29), siendo el aumento proporcional a la intensidad de la conducta sexual (15, 29).

En trabajos anteriores se comprobaba la existencia de factores reflejos relacionados con la cópula, que eran capaces de suprimir el efecto inhibitor de la reserpina sobre la ovulación (14, 19, 20) y de la p-clorofenilalanina (23-25). Por las interferencias que introduce la técnica experimental, las condiciones son difícilmente comparables a las que se presentan cuando no se altera la conducta espontánea de los animales. Por eso nos pareció conveniente completar estos trabajos estudiando la influencia de la conducta copulatoria en la rata en condiciones fi-

\* Dirección actual: Departamento de Fisiología Animal. Facultad de Ciencias. Santiago de Compostela (España).

siológicas de entera normalidad, es decir, conservando la mayor espontaneidad posible en la conducta de los animales, valorando la influencia de la conducta copulatoria sobre el desarrollo folicular y la ovulación en relación con distintas fases y horas del ciclo ovárico, determinando en cada grupo el número de folículos y su tamaño en el ovario y el número de óvulos y su posición en trompas de Falopio extendidas.

### Material y métodos

Se utilizan 76 ratas Wistar de peso medio 200 g, mantenidas en condiciones estándar de iluminación artificial controlada de 14 horas de luz y 10 de oscuridad, a temperatura constante de 20° C, comida y agua *ad libitum*. Se practica control del ciclo ovárico mediante frotis vaginales diarios a la misma hora y se utilizan sólo las ratas que tienen ciclo regular por lo menos 12 días antes de los experimentos. Todos los animales han estado por lo menos un mes en condiciones de iluminación controlada antes de iniciar el estudio.

Las ratas se sacrifican por decapitación en distintos días y horas del ciclo ovárico, se disecan las trompas y los ovarios y se realizan cortes seriados de 10  $\mu\text{m}$  de espesor, que se tiñen con hematoxilina-eosina. Este método permite el recuento con gran seguridad de óvulos en la trompa, de folículos en los ovarios y la determinación del tamaño folicular. En algunos animales de cada grupo, se ha determinado el número de óvulos y su posición en trompas de Falopio extendidas (fig. 1).

Los folículos se han dividido en tres grupos: *grandes*, mayores de 500  $\mu\text{m}$ , que se consideran como preovulatorios; *medios*, de 401 a 500  $\mu\text{m}$ , que pueden corresponder a folículos en vías de maduración o de evolución a la atresia; y *pequeños*, de 300 a 400  $\mu\text{m}$ , que corres-

ponderían a los folículos preovulatorios en el ciclo siguiente.

Con objeto de estudiar el desarrollo folicular y la ovulación en distintas horas y fases del ciclo ovárico, y poder precisar el momento más adecuado para el recuento de óvulos, se realiza la siguiente distribución de grupos experimentales que son sacrificados a distintas horas y fases del ciclo ovárico y que no permanecen en condiciones de copulación: sacrificadas en proestro, 5 ratas a la hora 9 y 7 ratas a la hora 18; sacrificadas en estro, 5 ratas a la hora 9 y 13 ratas a la hora 16; sacrificadas en metaestro, 5 ratas a la hora 9 y 14 ratas a la hora 16.

A efectos de valorar la influencia de la actividad copulatoria, se toma como control el grupo sacrificado a la hora 16 de estro en el que se ha producido ya de forma significativa la ovulación y en el que se tiene la seguridad de que los óvulos no han pasado a la cavidad uterina, ya que no han alcanzado todavía el último tercio de la trompa. En condiciones de copulación existen dos grupos, en los que cada rata se coloca en jaula individual con un macho de peso medio 300 g y de comprobada capacidad fecundante, permaneciendo en condiciones de copulación las 13 ratas del grupo I desde las 16 de diestro a las 16 de proestro, lo que comprende las horas de activación hipotalámica-hipofisaria de la parte inicial del ciclo y el período crítico de activación de la LH (4, 13). El horario de las 14 ratas del grupo II es de 10 de proestro a 10 de estro, lo que comprende las cuatro últimas horas del período de activación hipotalámica-hipofisaria, el período crítico que precede a la descarga ovulatoria de LH, las horas siguientes a la fase inicial de descarga de LH — que se ha considerado como período potencial de prolongación de descarga de LH (4) — y también las horas de estro en las que persiste la descarga de FSH (5). Las ratas se sacrifican a la hora 16 de estro y se procede como en los grupos anterior-

res. La presencia de espermatozoides en el frotis vaginal del día siguiente a permanecer en condiciones de copulación, es la comprobación de que se ha producido inseminación y sirve como índice para valorar la conducta reproductora. Sólo se utilizan los datos obtenidos en animales de comprobada conducta copulatoria.

Los resultados se expresan con la media y la desviación de la media y el estudio estadístico se realiza por la *t* de Student.

### Resultados

*Ciclo ovárico.* En las ratas sacrificadas en distintas fases y horas del ciclo ovárico (tabla I), se observa un aumento progresivo del número de óvulos desde las 9 del estro a las 9 del metaestro, que es significativo en este último grupo. En las sacrificadas a las 16 del metaestro, hay una disminución del número de óvulos.

A las 9 del estro todos los óvulos están en el primer tercio de la trompa y a lo largo del estro van pasando al segundo tercio. En el metaestro, aunque siguen habiendo óvulos en el primer tercio, ya se encuentran en el último tercio de la trompa e incluso es posible que a la hora 16 algunos hayan pasado a la cavidad uterina.

El número de folículos mayores de 500  $\mu\text{m}$  que tomamos como preovulatorios, experimenta una disminución muy

significativa en estro y metaestro respecto al proestro, debido a que se ha producido la rotura folicular. El número de óvulos más folículos grandes — tomado como índice del número de folículos preovulatorios que había en el momento de la descarga de LH —, es semejante en todos los grupos que no permanecen en condiciones de copulación.

El número de folículos medios disminuye respecto al proestro desde las 9 del estro a las 9 del metaestro, pero en relación a éstos, en el grupo sacrificado a la hora 16 de metaestro hay un aumento significativo. El número de folículos pequeños es mayor significativamente en proestro y estro respecto al grupo sacrificado a la hora 16 de metaestro.

El número total de folículos en proestro es mayor significativamente respecto al resto de los grupos, excepto en el sacrificado a las 16 del estro que no llega a ser significativa la disminución.

*Efecto de la actividad copulatoria.* En los grupos en condiciones de copulación (tabla II), aumenta el número de óvulos en trompa, pero el aumento es sólo significativo en el grupo II en condiciones de copulación de 10 de proestro a 10 de estro, lo cual puede atribuirse a la prolongación del nivel de descarga de LH por efecto copulatorio durante el período de prolongación potencial de la descarga de LH.

El número de folículos mayores de 500  $\mu\text{m}$  se incrementa por efecto copu-



Fig. 1. Sección de trompa estirada de rata control sacrificada a la hora 16 de estro. Se aprecia un óvulo en el segundo tercio de la trompa ( $\times 2,5$ ).

Tabla 1. Ovulación, desarrollo folicular y localización de los óvulos en la trompa en ratas sacrificadas a distintos días y horas del ciclo ovárico y que no han permanecido en condiciones de copulación.  
El número de animales de cada grupo entre paréntesis. Valores medios  $\pm$  desviación de la media.

| Día y hora del ciclo    | Óvulos            | Folículos             |                        |                          |                              | Total            | Óvulos más folículos grandes | Localización de los óvulos en la trompa |         |     |
|-------------------------|-------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|------------------------------|------------------|------------------------------|---|---------|-----|
|                         |                   | Grandes > 500 $\mu$ m | Medios 401-500 $\mu$ m | Pequeños 300-400 $\mu$ m | Ovulos más folículos grandes |                  |                              | 1/3                                     | 2/3     | 3/3 |
| Proestro 9 h (n = 5)    | 0                 | 13,80 $\pm$ 0,49      | 22,80 $\pm$ 1,59       | 40,80 $\pm$ 1,74 **      | 77,40 $\pm$ 1,86 ***         | 13,80 $\pm$ 0,49 | —                            | —                                       | —       |     |
| Proestro 18 h (n = 7)   | 0                 | 14,86 $\pm$ 0,40      | 22,00 $\pm$ 3,88       | 39,71 $\pm$ 3,77 **      | 76,57 $\pm$ 6,19 ***         | 14,86 $\pm$ 0,40 | —                            | —                                       | —       |     |
| Estro 9 h (n = 5)       | 8,20 $\pm$ 0,37   | 5,60 $\pm$ 0,40 ***   | 18,60 $\pm$ 1,03       | 38,80 $\pm$ 2,50 **      | 63,00 $\pm$ 1,64             | 13,80 $\pm$ 0,58 | 100 %                        | —                                       | —       |     |
| Estro 16 h (n = 13)     | 9,15 $\pm$ 0,45   | 4,77 $\pm$ 0,64 ***   | 20,15 $\pm$ 2,02       | 41,85 $\pm$ 2,90 **      | 66,77 $\pm$ 3,96             | 13,92 $\pm$ 0,91 | 75,63 %                      | 24,36 %                                 | —       |     |
| Metaestro 9 h (n = 5)   | 9,40 $\pm$ 0,24 * | 5,20 $\pm$ 0,37 ***   | 20,00 $\pm$ 1,79       | 34,20 $\pm$ 2,60         | 59,40 $\pm$ 2,04             | 14,60 $\pm$ 0,40 | 56,76 %                      | 37,83 %                                 | 5,41 %  |     |
| Metaestro 16 h (n = 14) | 9,00 $\pm$ 0,41   | 5,57 $\pm$ 1,05 ***   | 26,00 $\pm$ 1,54 +     | 30,00 $\pm$ 2,09         | 61,57 $\pm$ 2,27             | 14,57 $\pm$ 1,10 | 42,06 %                      | 47,63 %                                 | 10,31 % |     |

\*\*\* P < 0,001 respecto a proestro 9 h y 18 h.

\*\* P < 0,005 respecto a metaestro 16 h.

\* P < 0,05 respecto a estro 9 h.

+++ P < 0,001 respecto a estro 9 h y metaestro 9 h y 16 h.

+ p < 0,05 respecto a metaestro 9 h y estro 9 h y 18 h.

Tabla II. Efecto de la actividad copulatoria sobre la ovulación y desarrollo folicular en ratas sacrificadas a la hora 16 de estro. El número de animales de cada grupo entre paréntesis. Valores medios  $\pm$  desviación de la media.

| Condiciones de copulación                     | Ovulos             | Folículos             |                        |                          |                       | Total               | Ovulos más folículos grandes |
|---|--------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------|------------------------------|
|   |                    | Grandes > 500 $\mu$ m | Medios 401-500 $\mu$ m | Pequeños 400-300 $\mu$ m |                       |                     |                              |
| Control (n = 13)                              | 9,15 $\pm$ 0,54    | 4,77 $\pm$ 0,64       | 20,15 $\pm$ 2,02       | 41,85 $\pm$ 2,90         | 66,77 $\pm$ 3,96      | 13,92 $\pm$ 0,91    |                              |
| Grupo I 16 h Diestro a 16 h Proestro (n = 13) | 10,00 $\pm$ 0,25   | 7,31 $\pm$ 0,65 **    | 24,69 $\pm$ 2,86       | 48,54 $\pm$ 2,23         | 80,54 $\pm$ 3,05 **   | 17,31 $\pm$ 0,74 ** |                              |
| Grupo II 10 h Proestro a 10 h Estro (n = 14)  | 10,43 $\pm$ 0,31 * | 5,36 $\pm$ 0,56       | 24,79 $\pm$ 1,63       | 53,86 $\pm$ 3,11 ***     | 84,00 $\pm$ 2,78 **** | 15,79 $\pm$ 0,66    |                              |

Valores de P respecto al control:

- \* P < 0,05;
- \*\* P < 0,02;
- \*\*\* P < 0,01;
- \*\*\*\* P < 0,005.

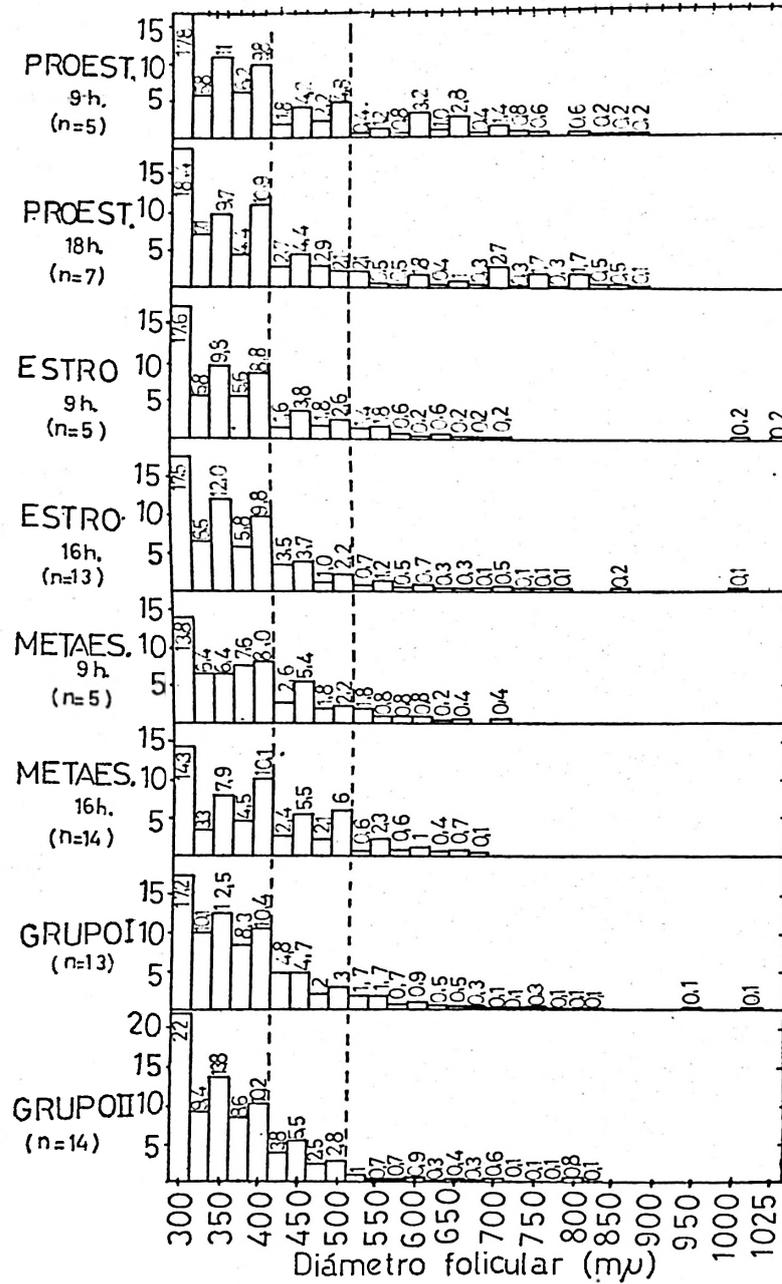


Fig. 2. Distribución de folículos por tamaños en ratas sacrificadas en distintas fases y horas del ciclo.

El grupo I en condiciones de copulación de 16 de diestro a 16 de proestro y el grupo II de 10 de proestro a 10 de estro y ambos sacrificados a las 16 de estro. Las barras corresponden a los valores medios y en paréntesis el número de animales por grupo.

latorio, pero el aumento es significativo sólo en el grupo I en condiciones de copulación de 16 de diestro a 16 de proestro, que puede atribuirse a una facilitación copulatoria de liberación de FSH en la parte inicial del ciclo durante el período de activación hipotalámica-hipofisaria.

El número de óvulos más folículos grandes —tomado como índice del número de folículos preovulatorios que había en el momento de la descarga de LH—, se incrementa por efecto copulatorio, siendo el aumento significativo sólo en el grupo I de 16 de diestro a 16 de proestro, lo que sugiere también una facilitación copulatoria en la liberación de FSH en la parte inicial del ciclo durante el período de activación hipotalámica-hipofisaria.

El aumento del número de folículos medios por efecto copulatorio no llega a ser significativo y el número de folículos pequeños —que se consideran en fase inicial de desarrollo y que estarán en condiciones de ovulación en el ciclo siguiente—, experimentan un aumento significativo en el grupo II de 10 de proestro a 10 de estro, lo que puede atribuirse a una facilitación en la liberación de FSH en las primeras horas del estro. El número total de folículos se incrementa significativamente en los dos grupos en copulación por facilitación copulatoria en la liberación de FSH; sin embargo, el aumento es mayor en el grupo II de 10 de proestro a 10 de estro, probablemente porque comprende los dos tipos de efectos copulatorios sobre la secreción de FSH, el de las primeras horas del estro y el de las cuatro últimas horas del período de activación hipotalámica-hipofisaria.

En la figura 2 se expone la distribución de folículos por tamaños en los distintos grupos de animales.

### Discusión

*Ciclo ovárico.* Entre la hora 18 de proestro y 9 de estro tiene lugar la ovu-

lación, aunque durante el día de estro todavía puede producirse la liberación de algún óvulo. En la mañana del estro todos los óvulos se encuentran en el primer tercio de la trompa, pero, durante el día del estro y metaestro, los óvulos avanzan por la trompa y, posiblemente, en la tarde de metaestro algún óvulo pasa a la cavidad uterina, ya que se observa una ligera disminución del número de óvulos en el grupo sacrificado a las 16 del metaestro, aunque pudiera también deberse a degeneraciones celulares. Como consecuencia de la rotura folicular, disminuye acusadamente el número de folículos mayores de 500  $\mu\text{m}$  en estro y metaestro, aunque no desaparecen como han indicado otros autores en ratón (28) y en rata de ciclo de 5 días (17). Esta diferencia es difícil de explicar y posiblemente corresponda a distintos tipos de curvas de secreción hormonal o a cambios en el ciclo de la adenilciclasa folicular (18). El número de óvulos más folículos grandes permanece constante en los distintos grupos sin copulación, por el número total de folículos mayores de 300  $\mu\text{m}$ , disminuye significativamente en el estro y metaestro debido a la rotura folicular y a la atresia que experimentan los folículos medios (6, 7).

En la tarde del metaestro se observa un aumento significativo del número de folículos medios respecto al estro y mañana de metaestro y también una disminución del número de folículos pequeños. Posiblemente en la tarde de metaestro se inicia el crecimiento folicular a partir de los folículos pequeños que estarán en condiciones de ovulación al final de ese ciclo. Durante el diestro y proestro se continúa el desarrollo folicular, con aumento del número de folículos grandes, pequeños y total de folículos, tal como se observa en los grupos sacrificados en proestro.

*Efectos de la activación copulatoria.* En la rata, la actividad copulatoria espontá-

nea facilita la maduración folicular y la ovulación. En nuestras condiciones experimentales, la conducta copulatoria espontánea da origen a un conjunto de estímulos que, en condiciones naturales, no se limita sólo al estímulo coital, sino que afecta a receptores de muy diversas localizaciones, dando lugar a descargas de potenciales que alcanzan las neuronas hipotalámicas y extrahipotalámicas (13, 31) —centro cíclico y centro tónico—, modulando su actividad y produciendo cambios en la liberación de GnRH, FSH y LH. Por lo tanto, puede decirse que el efecto de los estímulos periféricos originados por la conducta reproductora, se superpone a los cambios cíclicos espontáneos del ciclo ovárico.

Los efectos observados en el grupo I de 16 de diestro a 16 de proestro, pudieran atribuirse a un aumento en la liberación de FSH en la primera parte del ciclo, durante el período de activación hipotalámica-hipofisaria, lo que explicaría el aumento significativo de folículos grandes, del total de folículos y del número de óvulos más folículos grandes. El aumento del número de óvulos, que no llega a ser significativo, se explicaría como simple consecuencia del mayor número de folículos maduros que había en el momento de la descarga de LH.

El aumento significativo del número de óvulos observados en el grupo II de 10 de proestro a 10 de estro, sugiere un aumento en la liberación de LH en el período crítico y en las horas siguientes —período de activación potencial de la LH (4)—, con una prolongación del nivel ovulatorio de LH, que podría ser suficiente para explicar el aumento en la ovulación, al facilitar la rotura folicular en folículos que pocas horas antes no habían alcanzado el desarrollo necesario para la ovulación. El aumento del número de óvulos más folículos grandes no es significativo en este grupo, probablemente porque sólo comprende las cuatro últimas horas del período de activación hi-

potalámica-hipofisaria, con lo que la facilitación copulatoria de la secreción de FSH en períodos preovulatorios es pequeña y afecta poco al desarrollo de los folículos grandes. El aumento significativo del número de folículos pequeños y del total de folículos, puede ser debido a un aumento en la descarga de FSH por efecto copulatorio en períodos postovulatorios durante las primeras horas del estro (5). El incremento del número total de folículos es mayor en este grupo, probablemente porque incluye los dos tipos de efectos copulatorios sobre la secreción de FSH, el de las primeras horas del estro y las cuatro últimas horas del período de activación hipotalámica-hipofisaria.

### Resumen

Se estudia la maduración folicular, la ovulación y la posición de los óvulos en trompas estiradas en distintas fases y horas del ciclo ovárico de la rata, y la influencia de distintas condiciones de copulación en esos procesos.

En copulación de la hora 16 de diestro a 16 de proestro, aumenta significativamente el número de folículos grandes, el total de folículos y el número de óvulos más folículos grandes. En copulación de la hora 10 de proestro a 10 de estro, aumenta significativamente el número de óvulos, de folículos pequeños y el total de folículos. Se concluye que la activación copulatoria facilita la maduración folicular y la ovulación.

### Bibliografía

1. ADLER, N. T.: *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 69, 613-622, 1969.
2. ADLER, N. T., RESKO, J. A. y GOY, R. W.: *Physiol. Behav.*, 5, 1003-1007, 1970.
3. ARON, C., ROOS, J. y ASCH, G.: *Neuroendocrinology*, 3, 47-54, 1968.
4. BLAKE, C. A.: *Endocrinology*, 95, 572-578, 1974.
5. BLAKE, C. A.: *Clinics Obstet. Gynecol.*, 5, 305-328, 1978.
6. BYSKOV, A. G.: En «The Vertebrate Ovary» (R. E. Jones, ed.), Plenum Press, Nueva York, 1978, pp. 533-562.

7. BYSKOV, A. G.: En «Ovarian Follicular Development and Function» (A. R. Midgley, Jr. y W. A. Sadler, eds.). Plenum Press, Nueva York, 1979, pp. 41-58.
8. DAVIDSON, J. M., SMITH, E. R. y BOWERS, C. Y.: *Endocrinology*, 93, 1185-1192, 1973.
9. DYER, R. G. y MAYES, L. C.: *Exp. Brain Res.*, 33, 583-592, 1978.
10. EVERETT, J. W.: *Anat. Rec.*, 112, 327, 1952.
11. EVERETT, J. W.: *Endocrinology*, 80, 145-154, 1967.
12. EVERETT, J. W. y QUINN, D. L.: *Endocrinology*, 78, 141-150, 1966.
13. FINK, G.: En «Ovulation in the Human» (P. G. Crosignani y D. R. Mishell, eds.). Academic Press, Nueva York, 1976, pp. 95-114.
14. GONZÁLEZ-BARÓN, S., JIMÉNEZ-VARGAS, J. y HERNÁNDEZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, 29, 279-288 1973.
15. HARDY, D. F.: *Behaviour*, 41, 288-297, 1972.
16. HARRINGTON, F. E., EGGERT, R. G. y WILBUR, R. D.: *Endocrinology*, 81, 877-881, 1967.
17. HIRSHFIELD, A. N. y MIDGLEY, A. R.: *Biol. Reprod.*, 19, 597-605, 1978.
18. HUNZICKER-DUNN, M.: En «Ovarian Follicular Development and Function» (A. R. Midgley, Jr. y W. A. Sadler, eds.). Raven Press, Nueva York, 1979, pp. 267-304.
19. JIMÉNEZ-VARGAS, J., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y HERNÁNDEZ, F.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, 17, 1-8, 1973.
20. JIMÉNEZ-VARGAS, J., TEJERA, V. y GONZÁLEZ-BARÓN, S.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, 14, 123-127, 1970.
21. JOCHE, W.: En «Die Gestagene» (K. Junkmann, ed.), Vol. 22/2. Springer-Verlag, Berlín, 1969, p. 606.
22. KREY, J. C., TYREY, L. y EVERETT, J. W.: *Endocrinology*, 93, 385-390, 1973.
23. MARCÓ, J. y JIMÉNEZ-VARGAS, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 35, 63-74, 1979.
24. MARCÓ, J. y JIMÉNEZ-VARGAS, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 35, 75-84, 1979.
25. MARCÓ, J., TOSAR, A., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y JIMÉNEZ-VARGAS, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 34, 81-86, 1978.
26. MILLER, F. P., COX, R. H., SNODGRASS, W. R. S. y MAICKEL, R. P.: *Biochem. Pharmacol.*, 19, 435-442, 1970.
27. MOSS, R. L. y COOPER, K. J.: *Endocrinology*, 92, 1748-1753, 1973.
28. PEDERSON, T. y PETERS, H.: *Acta Endocrinol.*, 64, 304-323, 1970.
29. RODGERS, C. H. y SCHWARTZ, N. B.: *Endocrinology*, 92, 1475-1479, 1973.
30. SPIES, H. G. y NISWENDER, G. D.: *Endocrinology*, 88, 937-943, 1971.
31. WUTTKE, W.: *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 76, 59-93, 1976.

