

Acción de la gonadotrofina coriónica humana sobre los órganos sexuales de la rata macho impúber *

P. Romani-Sopena

Laboratorio de Fisiología Animal. Facultad de Farmacia.
Universidad de Barcelona (España)

(Recibido el 16 de junio de 1970)

P. ROMANI-SOPENA. *Effect of Human Chorionic Gonadotrophin on Immature Male Rat*. R. esp. Fisiol., 27, 9-14, 1971.

The effect of the HCG on the weight of the male rat accessory reproductive organs of 4, 7, 10, 15, 18 and 21 days of age have been studied. The maximal response has been found at 15 days on seminal vesicles. Although the repeated administration of the hormone yields greater responses than the unique one, at 15 days a discriminative capacity between augmenting unique doses of HCG in everyone of the organs studied has been observed.

Si bien no está perfectamente aclarado el papel que desempeña la gonadotrofina coriónica humana (HCG) en la madre y en el feto durante la gestación, sí se conoce su modo de acción al ser inyectada a los animales de experimentación, parecido al de la LH o ICSH hipofisaria: dosis masivas de HCG en ausencia de testículos no dan lugar a la aparición de los caracteres sexuales secundarios en la rata (7); 48 horas después de la administración de dosis elevadas de HCG a ratas adultas se comprueba una hipertrofia bien patente en las células de Leydig (15); la administración endovenosa de HCG a ratas adultas provoca un aumento de la testosterona testicular (9).

No es de extrañar, pues, que los diferentes investigadores que se han dedicado a la valoración de la HCG hayan tomado como índice de actividad, bien el aumento de peso de los órganos sexuales secundarios, bien alguna medida que indique la mayor funcionalidad de dichos órganos como consecuencia de la descarga de las hormonas sexuales en los órganos primarios, provocada por la HCG.

Nosotros hemos estudiado el método del aumento de peso de los órganos sexuales secundarios en la rata albina impúber, deteniéndonos en los siguientes extremos: 1. Desarrollo normal de los órganos sexuales secundarios de la rata macho en función de la edad. 2. Determinación de la edad a la que son sensibles a la HCG. 3. Sensibilidad a la HCG de los distintos órganos sexuales. 4. Posible variación del método: a) Usando distintas vías de administración. b) Empleando dosis única o fraccionada.

* El presente trabajo forma parte de la tesis doctoral, dirigida por el Prof. Dr. A. FRAILE, y ha sido realizado en el Laboratorio de la Cátedra de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia de Barcelona.

Material y métodos

La HCG empleada fue el primer Standard Internacional facilitado por el «Department of Biological Standards» de Londres. Se utilizaron ratas macho albinas de la raza Wistar procedentes del «Institut für Tierernährung», de Braunschweig, aclimatadas en la Facultad de Farmacia de Barcelona desde 1957.

Se hicieron lotes de 10 animales cada uno. Si la administración de HCG era dividida en 3 dosis, 4 días antes del sacrificio eran inyectados los animales durante 3 días consecutivos. La dosis total recibida por las ratas sacrificadas a los 4, 7 y 10 días de edad fue de 30 U.I., mientras que las de 15, 18 y 21 días recibieron una dosis de 3 U.I. En los ensayos realizados empleando una única dosis de HCG, ésta fue administrada 4 días antes del sacrificio. En ambos casos se utilizó la inyección subcutánea.

Sacrificados los animales por exceso de anestesia con cloroformo, eran disecados los órganos sexuales, siendo fijados en solución de Bouin durante 24 horas, al cabo de las cuales eran secados entre papel de filtro y pesados en balanza de precisión.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos ha sido realizado aplicando el criterio de Student:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\epsilon_1 + \epsilon_2}}$$

si en los grupos comparados el número de experiencias es el mismo;

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{\sum d_1^2 + \sum d_2^2 (n_1 + n_2)}{n_1 + n_2 - 2 (n_1 n_2)}}}$$

en el caso de que en los grupos comparados no se hayan realizado el mismo número de experiencias.

M_1 = Valor medio grupo 1.

M_2 = Valor medio grupo 2.

n = Número de experiencias.

ϵ = Error standard.

$\sum d$ = Suma de las diferencias respecto al valor medio.

Aceptando que: si el valor de t calculado corresponde en las tablas a una probabilidad $< 0,05$, la diferencia entre los valores comparados no es estadísticamente significativa; si la t calculada corresponde a una $P < 0,02$, la diferencia será probablemente significativa; si la t calculada corresponde a una $P < 0,01$, la diferencia será estadísticamente significativa; si la t calculada corresponde a una $P < 0,001$, la diferencia será altamente significativa.

Resultados

DESARROLLO DE LOS ÓRGANOS SEXUALES EN FUNCIÓN DE LA EDAD. — El peso medio $\pm \epsilon t$ expresado en mg, del conjunto de la próstata total y las vesículas seminales de las ratas de 4, 7, 10, 15, 18 y 21 días de edad de los animales utilizados como control, así como el del lóbulo ventral de la próstata y las vesículas seminales de los animales de 15, 18 y 21 días, queda recogido en la tabla 1.

DETERMINACIÓN DE LA EDAD A LA QUE SON SENSIBLES A LA HCG. — En la tabla II queda reseñado el efecto de la adminis-

Tabla 1. *Peso medio (mg) de los órganos sexuales secundarios de la rata en función de la edad.*

Valores medios de 10 animales por cada grupo. M = peso medio expresado en mg. ϵt = límites fiduciales del valor medio.

Edad días	Próstata + seminales $M \pm \epsilon t^*$	Próstata ventral $M \pm \epsilon t^*$	Vesículas seminales $M \pm \epsilon t^*$
5	$2,4 \pm 0,4$	—	—
7	$4,7 \pm 0,6$	—	—
10	$9,0 \pm 0,9$	—	—
15	$11,8 \pm 1,5$	$2,4 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,6$
18	$19,7 \pm 1,1$	$4,7 \pm 0,7$	$4,7 \pm 0,2$
21	$28,4 \pm 2,7$	$9,3 \pm 0,7$	$4,2 \pm 0,6$

* $P = 0,05$.

Tabla II. *Acción de la HCG sobre el peso (mg) de la próstata más las vesículas seminales.*

% Aum.: Aumento de peso respecto al peso del lote control en %.

Edad días	Dosis U.I.	Peso de próstata + vesículas seminales (mg)	
		M $\pm$ σ t (p = 0,05)	% Aum. M $\pm$ σ t (p = 0,05)
4	30	1,9 $\pm$ 0,4	—
7	30	6,2 $\pm$ 0,9	35,0 $\pm$ 16,3
10	30	11,1 $\pm$ 1,0	23,0 $\pm$ 12,0
15	3	29,6 $\pm$ 1,3	151,1 $\pm$ 11,8
18	3	46,9 $\pm$ 2,3	138,0 $\pm$ 11,9
21	3	64,1 $\pm$ 3,5	129,2 $\pm$ 13,9

tración de 30 U.I. del primer Standard Internacional de HCG a los animales de 4, 7 y 10 días de edad y de 3 U.I. a los de 15, 18 y 21 días.

La aplicación del criterio de Student a los aumentos de peso del conjunto de la próstata y las vesículas seminales provocados por 3 U.I. de HCG en los animales de 15, 18 y 21 días de edad, nos indica que la diferencia observada entre los 15 y 18 días no es estadísticamente significativa, siendo probablemente significativa la obtenida entre los 15 y los 21 días de edad.

SENSIBILIDAD A LA HCG DE LOS DISTINTOS ÓRGANOS SEXUALES. — Las experiencias anteriores nos indicaron que la edad a la que nuestras ratas eran más sensibles a la HCG era la de 15 días, y fue a esa edad donde estudiamos separada-

Tabla III. *Acción de la HCG sobre el peso (mg) de los distintos órganos sexuales de la rata de 15 días de edad.*

Valores medios de 10 animales por grupo.

Órgano	% Aumento M $\pm$ σ t (p = 0,05)		
	1 U.I.	3 U.I.	6 U.I.
P. ventral	46,6 $\pm$ 11,2	70,4 $\pm$ 22,8	37,9 $\pm$ 11,4
V. seminales	90,0 $\pm$ 11,6	135,0 $\pm$ 34,2	126,6 $\pm$ 24,7
P. seminales	60,3 $\pm$ 10,3	82,7 $\pm$ 13,6	68,5 $\pm$ 14,1

mente la respuesta de los distintos órganos sexuales secundarios de la rata macho. Para mayor sencillez se administraron dosis únicas de HCG a ratas intactas de 12 días de edad, siendo sacrificadas a los 15 días (tablas III y IV).

Tabla IV. *Comparación entre el aumento de peso logrado en las vesículas seminales y los demás órganos sexuales de rata macho impuber, a los 15 días de edad.*

Valores medios de 10 animales por cada grupo. Grados de libertad = 18 en todos los casos.

Dosis U.I.	Órgano	M $\pm$ σ t	t
1	Seminales P. ventral	90,0 $\pm$ 11,6 46,6 $\pm$ 11,2	6,061 ^a
	Seminales P. + Seminales	90,0 $\pm$ 11,6 60,3 $\pm$ 10,3	4,413 ^a
3	Seminales P. ventral	135,0 $\pm$ 34,2 70,4 $\pm$ 22,8	3,546 ^b
	Seminales P. + Seminales	135,0 $\pm$ 34,2 82,7 $\pm$ 13,6	3,208 ^b
6	Seminales P. ventral	126,6 $\pm$ 24,6 37,9 $\pm$ 11,4	7,379 ^a
	Seminales P. + Seminales	126,6 $\pm$ 24,6 68,5 $\pm$ 14,1	4,715 ^a

^a P > 0,001; ^b P > 0,01.

ENSAYO DE LA POSIBLE VARIACIÓN DEL MÉTODO. — *Vías de administración.* — Es sabido (8) que la vía intraperitoneal produce sobre el aumento de peso de los órganos sexuales secundarios, para dosis pequeñas de gonadotrofina, un efecto mayor que la vía subcutánea, pero no se ha mencionado el efecto que produciría la administración intratesticular. En Japón (11) se ha citado la administración intraovárica de gonadotrofina en la rata inmadura hipofisectomizada.

Ratas de 18 días de edad fueron inyectadas en nuestro laboratorio intratesticularmente con una dosis única (1 ó 3 U.I.)

de HCG, siendo sacrificadas a los 21 días de edad (tabla V).

Dosis única o fraccionada de HCG. — La comparación entre dosis única o fraccionada se llevó a cabo a nivel de la dosis de 3 U.I. de HCG Standard en los animales de 15 y 21 días de edad (tabla VI).

Nuestros resultados coinciden con los de los investigadores que han estudiado la cuestión. Sin embargo, distintas dosis únicas son capaces de provocar una respuesta significativa aunque menor, ya suficiente para poder conocer de un modo cuantitativo la presencia de HCG. La respuesta provocada por dosis crecientes administradas en una sola inyección a ratas macho de 12 y 18 días de edad puede apreciarse en la tabla VII.

Discusión

A propósito de la valoración de la HCG por el método del aumento de peso de la próstata y vesículas seminales de la rata inmadura, LORAINÉ (13), BUÑO (2) y otros señalan que debe trabajarse con animales de 21 días, dado que los de menor edad son insensibles o poco sensibles a estas hormonas. Por otro lado, se cita el hecho de que hay producción de testosterona ya durante la vida fetal; ROOSEN (16) sostiene que el desarrollo relativo de las células de Leydig en la rata alcanza un máximo en el día 19 de la vida fetal y presenta un mínimo el cuarto día postnatal. LIPSETT *et al.* (12) han demostrado la síntesis de testosterona en los testículos fetales de 18 días, habiendo también observado una disminución de la actividad después del nacimiento. NOUMURA *et al.* (15) han determinado androstendiona y testosterona en fetos de rata de 13,5 días después de la administración de progesterona.

Las ratas de 4 días de edad que recibieron 30 U.I. de HCG no presentaron aumento alguno de peso en los órganos se-

Tabla V. *Ensayo de distintas vías de administración a ratas de 21 días.*

Entre paréntesis, número de experiencias.

Vía de administración	Dosis U.I.	Próstata + seminales mg	Aum. %
Control (10)	—	28,4	—
Subcutánea (10)	1	45,0	58,4
Intratesticular (1)	1	52,9	86,2
Subcutánea (10)	3	41,0	44,0
Intratesticular (2)	3	57,1	100,1

Tabla VI. *Comparación entre la administración seriada (F) y única (U) de 3 UI de HCG en las ratas de 15 y 21 días de edad.*

Valores medios de 10 animales por cada grupo. N = Grados de libertad.

Edad días	% Aumento de peso de próstata + seminales			
	M $\pm$ ϵ t (P = 0,05)	N	t	p
15 (F) (U)	151,1 $\pm$ 11,8 82,7 $\pm$ 13,6	18	8,550	>0,001
21 (F) (U)	129,2 $\pm$ 13,9 44,0 $\pm$ 26,3	18	6,454	>0,001

Tabla VII. *Respuesta provocada por dosis únicas crecientes de HCG administradas a ratas de 12 y 18 días de edad, sacrificadas a los 15 y 21 días, respectivamente.*

Entre paréntesis, número de experiencias.

Dosis U.I.	% Aumento de peso de próstata + seminales (M $\pm$ ϵ t) *	
	15 días	21 días
0,25	36,4 $\pm$ 13,1 (5)	27,1 $\pm$ 16,4 (4)
0,50	65,7 $\pm$ 20,8 (5)	29,8 $\pm$ 27,0 (4)
1,00	60,3 $\pm$ 10,3 (10)	58,4 $\pm$ 19,8 (10)
3,00	82,7 $\pm$ 13,6 (10)	44,0 $\pm$ 26,3 (10)
6,00	68,5 $\pm$ 14,1 (10)	100,2 $\pm$ 19,6 (10)

* P = 0,05.

Tabla VIII. Aumento del peso de próstata más seminales (%) correspondientes a dosis únicas crecientes de HCG en los animales de 15 y 21 días, respectivamente.

Dosis U.I.	15 días de edad				21 días de edad			
	M $\pm$ et (p = 0,05)	N	t	P	M $\pm$ et (p = 0,05)	N	t	P
0,25	36,4 $\pm$ 13,1 (5)	8	3,471	>0,01	27,1 $\pm$ 16,4 (4)	8	0,381	<0,05
0,5	65,7 $\pm$ 20,8 (5)				29,8 $\pm$ 27,0 (4)			
0,5	65,7 $\pm$ 20,8 (5)	13	0,650	<0,05	29,8 $\pm$ 27,0 (4)	12	1,896	<0,05
1	60,3 $\pm$ 10,3 (10)				58,4 $\pm$ 19,8 (10)			
1	60,3 $\pm$ 10,3 (10)	18	2,949	>0,01	58,4 $\pm$ 19,8 (10)	18	0,986	<0,05
3	82,7 $\pm$ 13,6 (10)				44,0 $\pm$ 26,3 (10)			
3	82,7 $\pm$ 13,6 (10)	18	1,635	<0,05	44,0 $\pm$ 26,3 (10)	18	3,902	>0,01
6	68,5 $\pm$ 14,1 (10)				100,2 $\pm$ 19,6 (10)			

xuales secundarios, lo que demuestra que, o bien el tejido intersticial del testículo no responde a esta hormona trófica, o bien un aumento de testosterona es incapaz de provocar respuesta de la próstata y las vesículas seminales. Las ratas de 7 días, lo mismo que las de 10 días tratadas con la gonadotrofina durante el período de 4-6 días y de 7-9, respectivamente, respondieron con aumentos respectivos del 38,9 % y 23,0 % del peso de la próstata más las vesículas seminales, pero para ello fue necesario administrar una dosis total de 30 U.I. de HCG. A partir de la edad de 12 a 15 días, los animales son sensibles a dosis más pequeñas de HCG y las respuestas son más patentes, 3 U.I. de HCG provocan en la rata de 15 días un aumento del peso de la próstata total más las vesículas seminales del 151 %, pero, contrariamente a lo consignado por LORAINÉ (13), la sensibilidad a la HCG parece ser máxima ya entre los 15 y los 21 días de edad y esta sensibilidad decrece después: el aumento es de 138,0 % a los 18 días y del 129,2 % a los 21 días. Tampoco parecen estar de acuerdo nuestros resultados con lo observado por HASHIMOTO (10): el estímulo con HCG a ratas inmaduras provoca la aparición de androstendiona en la vena testicular, y de testosterona en la rata adulta, siendo solamente posible provocar la apa-

rición de testosterona en las ratas inmaduras a los 34 días de edad ya próximas a la pubertad; parece que la HCG acelera la síntesis de la testosterona, pero no antes de la edad indicada.

La mayoría de los métodos descritos para la determinación biológica de HCG se basan en el aumento de peso de los órganos sexuales de la rata macho inmadura provocado por la HCG. Dichos órganos responden con una sensibilidad diferente frente a una misma dosis de hormona. Precisamente la elección de cualquiera de los órganos sexuales secundarios masculinos — lóbulo ventral de la próstata (6), vesículas seminales (3, 17, 18), próstata total sin seminales (14) o bien el conjunto de la próstata y las seminales (4) — se debe a esta diferencia de sensibilidad. Los resultados obtenidos por estos autores muestran que el órgano más sensible y el que responde con mayor precisión es el lóbulo ventral de la próstata, aunque DICZFALUSY (5) hace notar que es también dicho órgano el que está más afectado por las variaciones estacionales. Otra cuestión importante a tener en cuenta es el papel que pueda jugar la hipófisis al interactuar con la HCG. APOSTOLAKIS (1) observa, sin embargo, que a pesar de que el método basado en el aumento de peso de la próstata ventral de la rata inmadura hipo-

fisectomizada es más sensible, el test de la próstata ventral en animales intactos inmaduros proporciona prácticamente los mismos resultados satisfactorios y simplifica el análisis. Ya DICZFALUSY emplea animales intactos en lugar de hipofisectomizados y toma como índice de actividad el aumento de peso de la próstata y las seminales en conjunto.

Un estudio detenido de los datos consignados en la tabla III parece indicarnos dos hechos: 1. Las vesículas seminales se han mostrado los órganos más sensibles. 2. La dosis más efectiva ha sido la de 3 U.I. de HCG Standard.

El estudio estadístico aplicando el criterio de Student nos revela que a cualquier dosis, el aumento de peso de las vesículas seminales es significativamente mayor que el obtenido en la próstata ventral o en el conjunto de la próstata total más las vesículas seminales (ver tabla IV).

Cualquiera de los órganos estudiados es capaz de responder cuantitativamente al estímulo de 1 y 3 U.I. de HCG. La dosis de 3 U.I. parece ser una dosis umbral máxima, ya que la respuesta a 6 U.I. de HCG de las vesículas seminales y del conjunto de la próstata y las vesículas seminales es del mismo orden que el obtenido con la administración de 3 U.I., siendo significativamente menor en el caso de la próstata ventral, de acuerdo con los valores de la *t* de Student.

Dada la dificultad de la administración intratesticular, utilizando nuestras ratas recogimos pocos datos; sin embargo, ellos mismos nos han hecho esperar que, vencidas las dificultades técnicas, dicha vía de administración podrá ser de gran utilidad para los ensayos de la HCG.

El poder discriminativo de dosis crecientes administradas en una sola inyección es diferente a los 15 ó a los 21 días, como nos lo revela el análisis estadístico (ver tabla VIII). Solamente a los 15 días de edad nuestras ratas fueron capaces de diferenciar cuantitativamente dosis únicas crecientes de HCG.

Resumen

Se ha llevado a cabo un estudio de la acción de la HCG sobre el peso de los órganos sexuales secundarios de la rata macho de 4, 7, 10, 15, 18 y 21 días de edad, habiéndose encontrado una respuesta máxima a los 15 días por parte de las vesículas seminales. Aunque la administración seriada proporciona respuestas mayores que la administración en una dosis única, a los 15 días se ha observado una capacidad discriminativa entre dosis únicas crecientes de HCG en cualquiera de los órganos estudiados.

Bibliografía

1. APOSTOLAKIS, M., VOIGT, K. D.: *Acta Endocrinol.*, **28**, 54, 1958.
2. BUÑO, W.: *An. Fac. Med. Montevideo*, **44**, 214, 1959.
3. DEANESLY, R.: *Quart. J. Pharm. and Pharmacol.*, **8**, 651, 1935.
4. DICZFALUSY, E.: *Acta Endocrinol.*, **12**, suplement. XII, 32, 1953.
5. DICZFALUSY, E.: *Acta Endocrinol.*, **12**, suplement. XII, 35, 1953.
6. DICZFALUSY, E., HÖGBERG, B., and WESTMAN, A.: *Acta Endocrinol.*, **5**, 226, 1950.
7. DICZFALUSY, E., HOLMGREN, H., and WESTMAN, A.: *Acta Endocrinol.*, **5**, 43, 1950.
8. EVANS, H. M., and SIMPSON, M. E.: *The Hormones*, **2**, 351, 1950.
9. FARRIS, B. L., HURLEY, T. J., HANE, S., FORSHAM, P. H.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**, 864, 1969.
10. HASHIMOTO, I.: *Endocrinol. Jap.*, **13**, 326, 1966.
11. HIFAKI, S., SUGA, T., FUJISAKI, T., HARA, S., and HONDA, K.: *Jap. J. Vet. Sci.* **22** (suppl.), 546, 1960.
12. LIPSETT, M. R., and TULLNER, W. W.: *Endocrinol.*, **77**, 273, 1965.
13. LORAINE, J. A.: *J. Endocrinol.*, **6**, 319, 1950.
14. MORABITO, F., and STRAZZULLA, G.: *Spe. Arch. Biol. Norm. Pathol.*, **113**, 175, 1963.
15. NOUMURA et al.: *Endocrinol.*, **78**, 245, 1966.
16. ROOSEN, R., ANDERSON, D.: *Acta Anat.*, **37**, 125, 1959.
17. SEALY, J. L., and SONDERN, C. W.: *Endocrinol.*, **26**, 813, 1940.
18. WATTS, R. H., and ADAIR, F. L.: *Am. J. Obst. and Gynec.*, **46**, 183, 1943.