

## Efectos de la reserpina en la ovulación

S. González-Barón,\* J. Jiménez-Vargas y F. Hernández \*\*

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

(Recibido el 9 de junio de 1973)

S. GONZALEZ-BARON, J. JIMENEZ-VARGAS and F. HERNANDEZ. *Effects of Reserpine on the Ovulation*. Rev. esp. Fisiol., 29, 189-196. 1973.

A study of ovulation was carried out in order to provide data about adrenergic mechanisms that influence on the ovarian cycle of the rat, by administering a single dosis of reserpine at different times of the cycle. Oocyte counting in the tubes and histological study of the ovaries were performed by seriated sections. Inhibition of ovulation was observed when reserpine (2 mg/kg) was administered at the 8 hour of the day of dioestrus ( $0.05 > P > 0.01$ ) at the 16 hour of the day of dioestrus (2 mg/kg), ( $0.05 > P > 0.01$ ); and when it was administered at the 8 hour of the day of proestrus (4 mg/kg), ( $0.01 > P > 0.001$ ). Ovulation was not significantly inhibited when it was administered (2 mg/kg) at the 16 hour of the day of proestrus. Oocytes were not found in the tubes of most of the animals injected with 4 mg/kg on the day of proestrus, instead they presented many mature follicles not ruptured and diffuse luteinization of the ovaries. These results indicate that the ovulation took place on the second half of the day of proestrus, and that it is in close relationship with the level of catecholamines in the hypothalamus. It is inferred that the luteinization of the ovary by higher dosis of reserpine is occasioned by a greater secretion of prolactine, dependent on the decrease of the level of catecholamines in the hypothalamus.

En investigaciones anteriores sobre efectos de la reserpina en la ovulación en ratas, se había observado una disminución significativa en el número de folículos maduros, un aumento significativo en la duración de la fase de diestro, con acorta-

miento de las fases de proestro y estro, cuando se administran dosis repetidas (15, 25, 30). Más recientemente, hemos sistematizado una técnica histológica de cortes seriados de trompas y ovarios que han proporcionado una valoración precisa del número de óvulos en las trompas de rata, y un estudio detallado de la morfología del ovario en diversas situaciones experimentales (26, 31). Utilizando esta técnica, se han obtenido resultados sobre la acción de la reserpina administrada en

\* Con una Beca del Ministerio de Educación y Ciencias.

\*\* Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

la fase de diestro, habiendo encontrado disminución significativa del número de ratas que ovulan. Se interpreta que el conjunto de efectos observados en la ovulación por tratamiento con reserpina, dependían de una depleción de los niveles de catecolaminas del hipotálamo. En trabajos anteriores se había revisado la relación entre monoaminas hipotalámicas y secreción de gonadotrofinas (4, 5, 15, 16, 18, 20, 21, 32-34, 38, 43).

El mecanismo de acción de la reserpina ha venido siendo objeto de numerosos trabajos experimentales. Se sabe que su acción se ejerce disminuyendo los depósitos de catecolaminas centrales y periféricas; facilita su movilización intravesicular, y posterior bloqueo de la recaptación del transmisor al interior de la vesícula, quedando sometido a desaminación oxidativa del enzima mitocondrial monoaminooxidasa (2, 3, 7, 9, 12-14, 22-24, 27, 41, 44-49).

Su acción específica hace que la utilización de este fármaco presente ventajas en el estudio de los mecanismos adrenérgicos hipotalámicos que regulan el ciclo ovárico.

El presente trabajo se ha orientado a precisar el papel de las catecolaminas en la rotura folicular. Para ello se han llevado a cabo una serie de experiencias administrando una sola dosis de reserpina en momentos distintos del ciclo, y valorando mediante técnica histológica seriada, el número preciso de óvulos en las trompas,

y posibles cambios en la morfología de los ovarios y trompas.

### Material y métodos

Se han utilizado ratas Wistar de peso entre 180 a 220 g, mantenidas a temperatura muy uniforme entre 20 y 25° C, en condiciones de iluminación artificial controlada, con 14 horas de luz y 10 de oscuridad (19). Correspondiendo la hora cero a la una de la madrugada, punto medio del período de oscuridad. Comida y agua, *ad libitum*.

Se realiza control del ciclo en todos los animales mediante frotis vaginales realizados a la misma hora. Los animales utilizados presentan ciclo regular de cuatro días. Todas las ratas, antes de la experiencia, han estado por lo menos dos meses en condiciones de iluminación controlada. Sólo se han utilizado las que presentaban ciclo regular controlado mediante frotis vaginal, por lo menos 15 días antes de la experiencia. Las fases del ciclo en las que se utilizó la reserpina son fáciles de identificar, siguiendo el estudio diario de los frotis (1, 6).

A las ratas del grupo de control se les administra suero fisiológico en la hora 8 del día de diestro. Se utilizan 4 grupos experimentales de 11 ratas, en los que se administra reserpina por vía intraperito-

Tabla 1. Estudio de la ovulación en ratas. Efectos de una sola dosis de reserpina.

Número de ratas por grupo, 11.

Reserpina mg/kg	Hora	Fase de administración	N.º ratas que ovulan	N.º de óvulos por rata que ovula
—	8	Diestro	11	10 ± 3,09
2	8	Diestro	6 *	8,56 ± 1,04
2	16	Diestro	6 *	9,50 ± 1,38
4	8	Proestro	4 **	10 ± 2,11
2	16	Proestro	9	10,7 ± 1,32

\* (0,05 > P > 0,01).

\*\* (0,01 > P > 0,001).

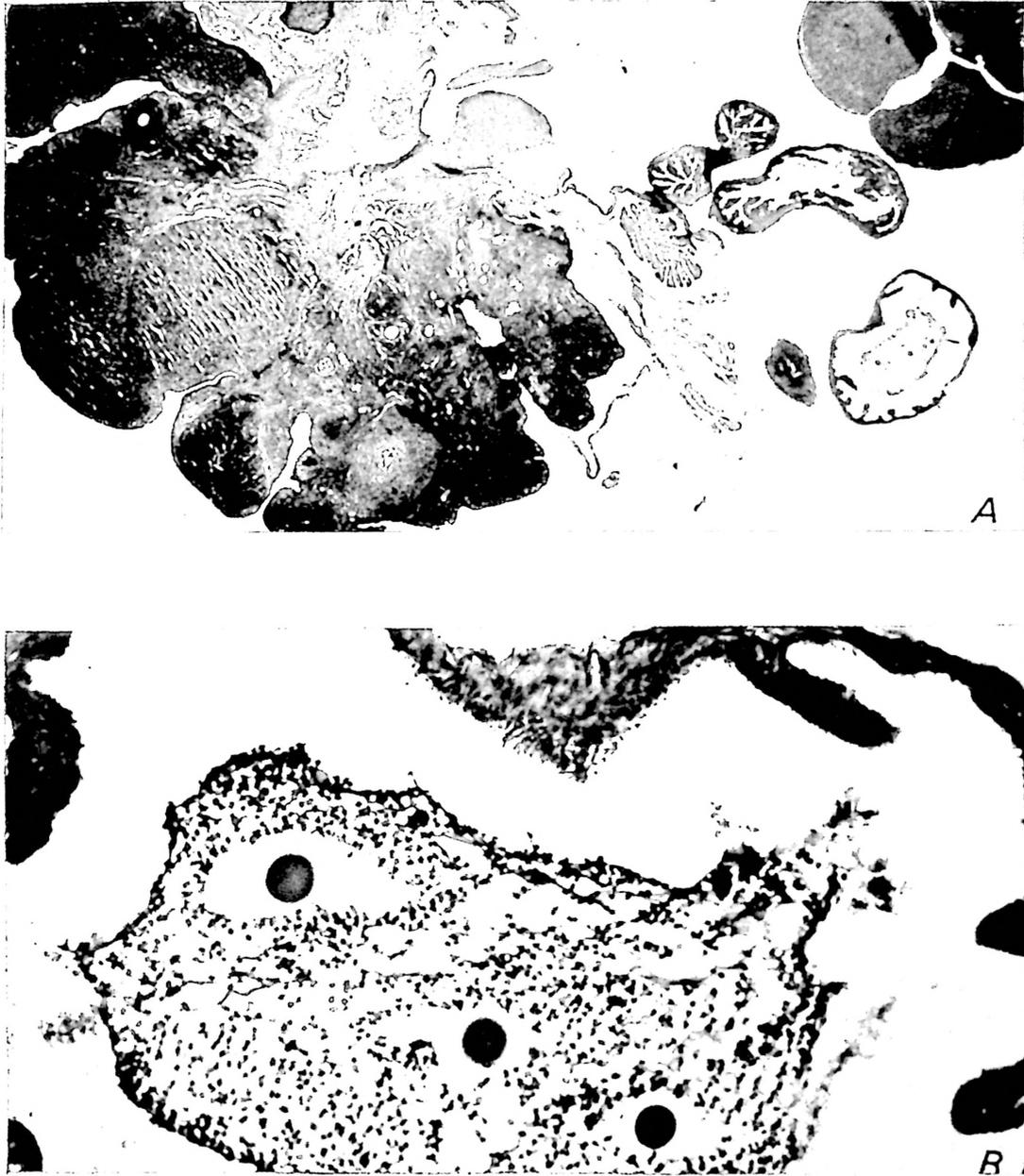


Fig. 1. *Panorámica de ovarios y trompas de una rata control.*  
A. En una trompa aparecen tres oocitos ( $\times 10$ ). — B. La misma trompa de la parte superior, a mayor aumento, en la que se observan agrupados tres cúmulos ovígeros con los correspondientes oocitos ( $\times 100$ ).

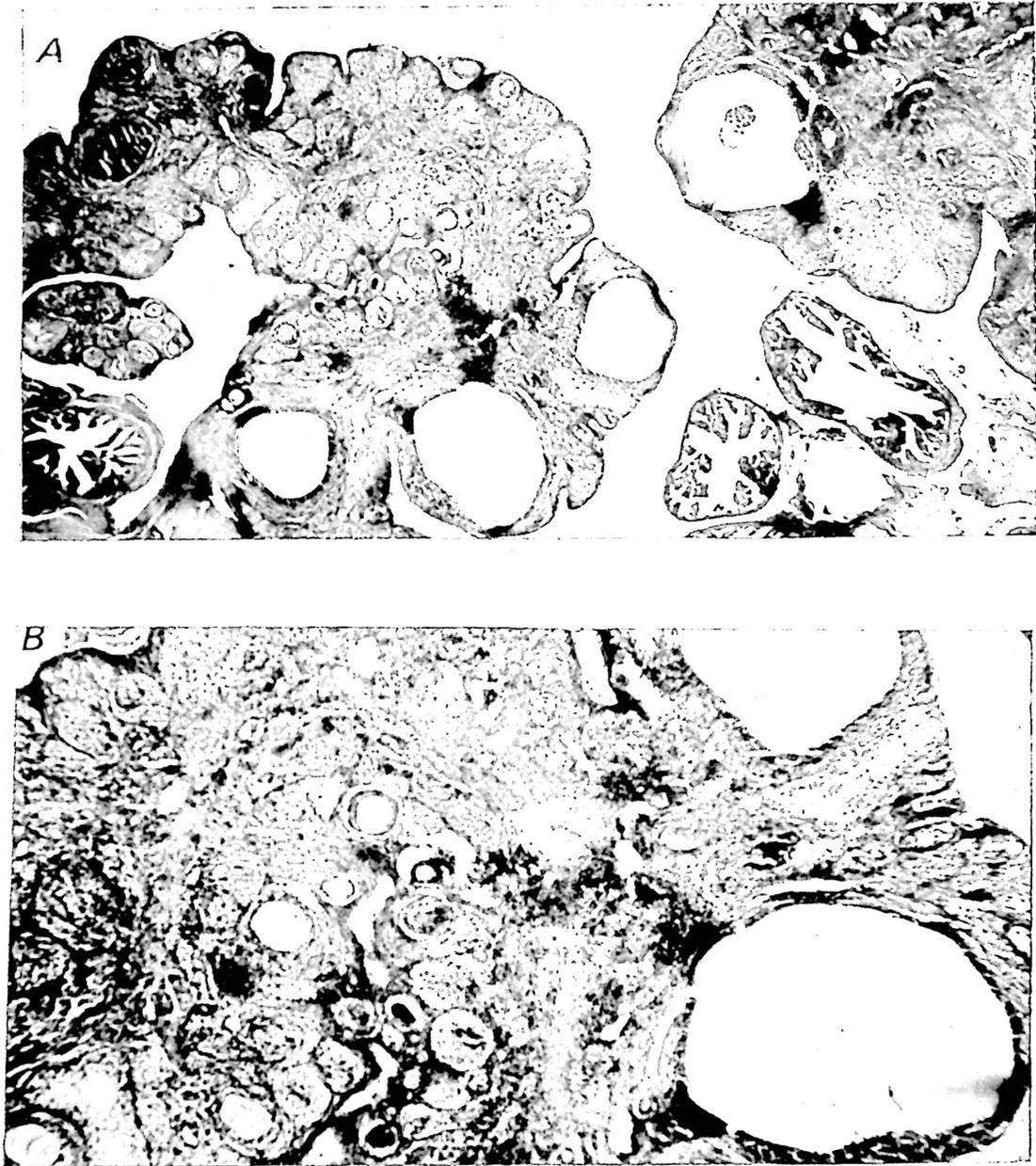


Fig. 2. Sección de trompas y ovarios correspondientes a una rata tratada con reserpina (4 mg/kg) en la hora 8 del día de proestro y sacrificada a las 36 horas. Destacan los folículos maduros sin romper, así como la luteinización difusa de los ovarios A. (X12). — B. (X25).

neal: *a*) 2 mg/kg en la hora 8 del día de diestro; *b*) 2 mg/kg de reserpina en la hora 16 del día de diestro; *c*) 4 mg/kg de reserpina en la hora 8 del día de proestro; *d*) 2 mg/kg de reserpina en la hora 16 del día de proestro.

Las ratas se sacrifican a la hora 16 del día teórico de estro, es decir, el grupo *a*) a las 56 horas de la administración del fármaco; el *b*) a las 48 horas; el *c*) a las 32 horas, y el *d*) a las 24 horas. Las trompas y ovarios se disecan, separando la grasa, se extienden y se procede a estudiar los cortes histológicos de trompas y ovarios, y al recuento de los óvulos en las trompas. El estudio se hace sobre 500 cortes histológicos por rata, de espesor comprendido entre 5 y 10 micras (fig. 1).

Se realiza estudio estadístico por método  $X^2$ .

### Resultados

En la tabla I se señalan los resultados obtenidos por la administración de reserpina en distintas fases y horas del ciclo.

En los grupos *a*) con reserpina, en la hora 8 del día de diestro, y en el *b*) con reserpina a la hora 16 del día de diestro, se produjo inhibición significativa en el número de ratas que ovulan en relación con los controles ( $0,05 > P > 0,01$ ).

En el grupo *d*) con reserpina a la hora 16 del día de proestro, sólo en dos animales se produce inhibición.

En los grupos *a*) y *b*) se observan folículos maduros sin romper en el interior del ovario. En el grupo *c*) con 4 mg/kg de reserpina, en la hora 8 del día de proestro, se produjo inhibición de la ovulación en un número considerable de ratas ( $0,01 > P > 0,001$ ). En los ovarios se aprecia una luteinización marcada del tejido intersticial, y abundantes folículos maduros sin romper, conteniendo oocitos. En algunos animales los cuerpos lúteos alcanzan mayores dimensiones que en las ratas normales (fig. 2).

### Discusión

Experiencias realizadas por MEYERSON y SAWYER (39, 40), administrando reserpina en distintas horas del día de proestro, ponían de manifiesto un efecto bloqueante de la rotura folicular, que era impedido si previamente administraban inhibidores de MAO. Ese bloqueo con reserpina tenía lugar sólo cuando se administraba antes del período crítico de liberación de LH. Estos resultados obtenidos mediante conteo directo de óvulos en trompas, con lupa, sugerían la importancia de las aminas biogénicas hipotalámicas en la descarga de LH. Otras experiencias ponen de manifiesto efectos inhibidores de la reserpina en la ovulación (5, 16, 17, 28, 29, 39, 40, 42).

Para otros autores, el efecto de la reserpina se ejercería principalmente por depleción de catecolaminas a nivel del ovario (28).

El presente trabajo se ha realizado administrando reserpina en distintas horas del día de diestro y del día de proestro, mediante control histológico de trompas y ovarios, que ofrece mayor garantía en los resultados. Administrando 2 mg/kg de reserpina, tanto en la hora 8 como en la hora 16 del día de diestro, se ha observado inhibición de la rotura folicular ( $0,05 > P > 0,01$ ), que fue más importante cuando se administró 4 mg/kg, en la hora 8 del día de proestro ( $0,01 > P > 0,001$ ), mientras que no encontramos efecto inhibitorio al administrarla en la hora 16 del día de proestro.

Estos resultados ponen de manifiesto que el efecto inhibitorio de la reserpina, variable según la dosis y momento del ciclo en que se administra, no tiene lugar en la tarde del día del proestro. Interpretamos que el efecto de depleción de catecolaminas producido por la reserpina, inhibe la rotura folicular, y, por tanto, la ovulación si la acción del fármaco tiene lugar antes de determinado momento del día de proestro comprendido entre las 8

y 16 horas. Pensamos que esta acción se ejerce principalmente sobre hipotálamo, aunque no descartamos un efecto de disminución de catecolaminas del ovario. La disminución de catecolaminas del hipotálamo tiene como consecuencia una disminución de la secreción de LH-RF (38, 43) y una falta de descarga de LH. Esta descarga de LH, según los resultados obtenidos tendría lugar normalmente en un momento tardío de la fase de proestro.

Cuando utilizamos reserpina a dosis de 4 mg/kg, en la hora 8 del proestro, sacrificando los animales 32 horas más tarde, además de la falta de ovulación en alto porcentaje, hemos observado una manifiesta luteinización del tejido intersticial del ovario.

La luteinización en el ovario de rata, a diferencia de otras especies de mamíferos, se debe principalmente a la prolactina y no a la LH. Hay datos experimentales (8, 10, 11, 18, 38) que muestran la dependencia del factor de inhibición de prolactina (PIF) del nivel de catecolaminas, más en concreto dopamina de neuronas de la eminencia media.

Teniendo en cuenta estos datos, interpretamos que la luteinización que encontramos en los ovarios de los animales a los que se administró 4 mg/kg de reserpina, depende de un aumento en la secreción de prolactina, consecuencia de la disminución en la secreción del PIF, por disminución de los niveles de catecolaminas de hipotálamo.

Nuestras experiencias parecen indicar diversos mecanismos adrenérgicos a nivel de hipotálamo, que ejercen su influencia sobre la rotura folicular.

### Resumen

Tratando de aportar datos sobre mecanismos adrenérgicos que influyen en el ciclo ovárico de la rata, se lleva a cabo un estudio de la ovulación, administrando una sola dosis de reserpina en distintos momentos del ciclo. Se realiza conteo de oocitos en trompas y estudio histológico de ovarios, mediante cortes seriados. Se

observa bloqueo de la ovulación cuando la reserpina se administra en la hora 8 del día de diestro (2 mg/kg) ( $0,05 > P > 0,01$ ); en la hora 16 del día de diestro (2 mg/kg) ( $0,05 > P > 0,01$ ), y cuando se administra en la hora 8 del día de proestro (4 mg/kg) ( $0,01 > P > 0,001$ ). No se produce inhibición significativa de la ovulación cuando se administra (2 mg/kg) en la hora 16 del día de proestro. Los animales tratados con 4 mg/kg en el día de proestro en los que no se observaron oocitos en las trompas, presentaban ovarios con abundantes folículos maduros sin romper y luteinización difusa del ovario. Estos resultados sugieren que el momento de la ovulación en las ratas utilizadas tiene lugar en la tarde de proestro, y guarda estrecha relación con el nivel de catecolaminas de neuronas del hipotálamo. Se sugiere que la luteinización del ovario por dosis más altas de reserpina se debe a una mayor secreción de prolactina, dependiente de la disminución de catecolaminas de hipotálamo.

### Bibliografía

1. ARON, C., ASCH, G. y ROOS, J.: En «International Review of Cytology». (G. H. Bourne y J. F. Danielli, edit.) Pág. 139. Academic Press, Nueva York, 1966.
2. AXELROD, J.: *Physiol. Rev.*, **38**, 751, 1959.
3. AXELROD, J.: *Recent. Progr. Hormone Res.*, **21**, 597, 1965.
4. BARRACLOUGH, C. A. y SAWYER, C. H.: *Endocrinology*, **61**, 341, 1957.
5. BARRACLOUGH, C. A. y SAWYER, C. H.: *Endocrinology*, **65**, 563, 1959.
6. BERTALANFFY, F. D. y LAUX, CH.: *Acta Anat.*, **54**, 39, 1963.
7. BERTLER, A.: *Acta physiol. scand.*, **51**, 75, 1961.
8. BIRGE, C. A., JACOBS, L. S., HAMMER, C. T. y DAUGHADAY, W. H.: *Endocrinology*, **86**, 120, 1970.
9. BRODI, B. B., SHORE, P. A. y PLETSCHER, A.: *Science*, **123**, 992, 1956.
10. BROWN, P. S.: *J. Endocr.*, **35**, 161, 1966.
11. BROWN, P. S. y FAWKE, L.: *J. Reprod. Fertility*, **28**, 167, 1972.
12. CARLSSON, A. y HILLARP, N. A.: *Kungl. Fysiograf. Sällskap. Lund. Forh.*, **26**, 1956.
13. CARLSSON, A., FALCK, B. y HILLARP, N. A.: *Acta physiol. scand.*, **196** (suppl. 56), 1, 1962.

14. CARLSSON, A. y LINDQVIST, M.: *Eur. J. Pharmacol.*, **2**, 187, 1968.
15. CARRASCOSA, M. A., CROFTON, J. y TEJERA, V.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **14**, 7, 1970.
16. COPPOLA, J. A., LEONARDI, R. G. y LIPPMANN, W.: *Endocrinology*, **78**, 225, 1965.
17. DEANESLEY, R.: *J. Reprod. Fertility*, **11**, 429, 1966.
18. DONOSO, A. O., BISHOP, W., FAWCETT, C. P., KRULICH, L. y MCCANN, S. M.: *Endocrinology*, **89**, 774, 1971.
19. EVERETT, J. W.: *Endocrinology*, **59**, 580, 1956.
20. EVERETT, J. W. y QUINN, D. L.: *Endocrinology*, **78**, 141, 1966.
21. EVERETT, J. W. y NICHOLS, D. C.: *Anat. Record.*, **160**, 346, 1968.
22. FAITH, M. E., YOUNG, L. D., GRABARITS, F. y HARVEY, J. A.: *Int. J. Neuropharmacol.*, **7**, 575, 1968.
23. GLOWINSKI, J. y AXELROD, J.: *Pharmac. Rev.*, **18**, 775, 1966.
24. GLOWINSKI, J., AXELROD, J. y IVERSEN, L. L.: *J. Pharmac. exp. Ther.*, **153**, 30, 1966.
25. GONZÁLEZ BARÓN, S., JIMÉNEZ VARGAS, J. y LÓPEZ GARCÍA, G.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **15**, 251, 1971.
26. GONZÁLEZ BARÓN, S., JIMÉNEZ VARGAS, J. y LÓPEZ GARCÍA, G.: *Actas XIV Reunión Nal. Soc. Esp. Estudio Esterilidad y Fertilidad*. Sta. Cruz de Tenerife, 1973. (En prensa.)
27. HAMBERGER, B., MALMFORS, T., NORBERG, K.-A. y SACHS, CH.: *Biochem. Pharmacol.*, **13**, 841, 1964.
28. HOPKINS, T. F. y PINCUS, G.: *Endocrinology*, **73**, 775, 1963.
29. JACKSON, G. L.: *Endocrinology*, **90**, 879, 1972.
30. JIMÉNEZ VARGAS, J., TEJERA, V. y GONZÁLEZ BARÓN, S.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **14**, 123, 1970.
31. JIMÉNEZ VARGAS, J., GONZÁLEZ BARÓN, S. y HERNÁNDEZ, F.: *Actas XIV Reunión Nal. Soc. Esp. Estudio Esterilidad y Fertilidad*. Sta. Cruz de Tenerife, 1973. (En prensa.)
32. KORDON, C.: *Neuroendocrinology*, **4**, 129, 1969.
33. KORDON, C.: *Neuroendocrinology*, **6**, 292, 1971.
34. KORDON, C. y GLOWINSKI, J.: *Neuropharmacology*, **11**, 153, 1972.
35. MAANEN, J. H. VAN y SMELIK, P. G.: *Neuroendocrinology*, **3**, 177, 1968.
36. MAC LEOD, R. M.: *Endocrinology*, **85**, 916, 1969.
37. MAC LEOD, R. M., FONTHAM, E. H. y LEHMEYER, J. E.: *Neuroendocrinology*, **6**, 283, 1970.
38. MCCANN, S. M.: *Fed. Proc.*, **29**, 1888, 1970.
39. MEYERSON, B. y SAWYER, C. H.: *Endocrinology*, **83**, 170, 1968.
40. MEYERSON, B. y LEWANDER, T.: *Life Sci.*, **9**, 661, 1970.
41. MUELLER, R. A. y SHIDEMAN, F. E.: *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **153**, 91, 1968.
42. RATNER, A. y MCCANN, S. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **138**, 763, 1971.
43. SCHNEIDER, H. P. G. y MCCANN, S. M.: *Endocrinology*, **87**, 249, 1970.
44. SHORE, P. A.: *Pharmacol. Rev.*, **14**, 531, 1962.
45. VALDECASAS, F. G., SALVÁ, J. A. y CUENCA, E.: *Arzneim. Forsch.*, **8**, 655, 1958.
46. VALDECASAS, F. G., SALVÁ, J. A. y CUENCA, E.: *Neuropsychopharmacology*. (P. Bradley, P. Deniker y R. Thomas, edit.) Elsevier. Amsterdam, 1959, pág. 421.
47. VON EULER, U. S. y LISHAJKO, F.: *Acta physiol. scand.*, **59**, 454, 1963.
48. VON EULER, U. S. y LISHAJKO, F.: *Acta physiol. scand.*, **68**, 257, 1966.
49. VON EULER, U. S. y LISHAJKO, F.: *Int. J. Neuropharmacol.*, **2**, 127, 1963.

