

Efecto de la p-clorofenilalanina sobre la reproducción en la rata

S. González-Barón, J. Jiménez-Vargas y J. Marcó

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

(Recibido el 30 de diciembre de 1974)

S. GONZALEZ-BARON, J. JIMENEZ-VARGAS and J. MARCO. *Effect of p-Chlorophenylalanine on the Reproduction of the Rat*. Rev. esp. Fisiol., 31, 63-68. 1975.

The effect of p-chlorophenylalanine (p-CPA) — 300 mg/kg — on reproduction has been studied in the female rat. Groups of animals were injected with a dose of 300 mg/kg of p-CPA 48 hours before proper copulation conditions at different moments along the ovarian cycle. Presence of spermatozoa in the vaginal frotis was negative in treated rats; in the control groups however, positivity was found in variable proportions according to the phase of the ovarian cycle: 30 ad 90 % in diestrus and proestrus respectively. Treated animals showed continuous diestrus phases and diffuse luteinitation of the ovary. The results may indicate that a decrease of cerebral 5-HT, caused by p-CPA, lessens the reproductive behaviour of the female rat through mechanisms depending probably on the liberation of gonadotrophins.

Estudios recientes ponen de manifiesto que la 5-hidroxitriptamina (5-HT) de neuronas centrales, y ciertos derivados indólicos de origen pineal, pueden tener un papel destacado en la regulación de la secreción de gonadotrofinas hipofisarias (6, 14, 15, 18, 19, 24, 26) y en la conducta reproductora (7, 22, 23, 28, 31) en la rata.

Los resultados obtenidos en la rata por administración de p-clorofenilalanina (p-CPA) inhibidor de la síntesis de 5-HT (11, 16, 17), se han interpretado como de estímulo de la conducta reproductora, aunque no por todos los autores (31).

Los recientes datos observados en este

laboratorio (8, 10, 12, 13), junto al hecho de que la mayor parte de las experiencias con p-CPA sobre conducta reproductora se han observado en ratas machos, hacía interesante plantear una serie de experiencias para estudiar en la rata hembra el efecto de dicho fármaco, administrado en distintos momentos del ciclo.

Material y métodos

Se utilizan ratas hembras Wistar de peso aproximado a 200 g, mantenidas en condiciones de iluminación artificial, 14 horas de luz y 10 de oscuridad. Tempe-

ratura ambiente entre 20 y 25° C. Comida y agua *ad libitum*. Se realiza control del ciclo ovárico mediante frotis vaginales diarios a la misma hora. En esas condiciones de luz se mantienen dos meses y sólo se utilizan las que presentan ciclo ovárico regular por lo menos desde 16 días antes de las experiencias. Los frotis vaginales se han realizado hasta el momento de sacrificar los animales.

Cada rata hembra se pone con un macho en jaula individual en una fase concreta del ciclo durante 24 ó 16 horas según las experiencias. El frotis vaginal del día en que están en condiciones de copulación y del siguiente presenta especial interés, ya que la presencia de espermatozoides es la comprobación de haberse producido inseminación y sirve como valoración de la conducta reproductora.

Los machos de peso medio 300 g se utilizan después de comprobada su capacidad de fecundación.

Las ratas hembras se sacrifican en su mayor parte 12 días después de ponerlas con los machos. Se hace recuento de embriones. Algunas de las no preñadas que

mantienen fase de diestro consecutivas se sacrifican entre 3 y 7 días. Se disecan trompas y ovarios para ulterior estudio histológico. Los cortes seriados entre 5 y 10 μ permiten gran seguridad en el recuento de óvulos en las trompas y estudio histológico de los ovarios (9, 13).

En cada serie de experiencias a un grupo de ratas hembras se les administra una sola dosis de p-CPA 300 mg/kg por vía intraperitoneal 48 horas antes de ponerlas en condiciones de copulación. El fármaco se disuelve en agua destilada con dos gotas de Tween 80.

Cada rata hembra se pone en jaula individual con un macho. Se hace la siguiente distribución: a) A la hora 8 del metaestro durante 24 horas, 11 ratas de control y 11 tratadas con p-CPA. b) A la hora 16 del diestro durante 16 horas, dos grupos: uno de 10 ratas control y otro de 11 ratas tratadas con p-CPA. c) A la hora 8 del proestro durante 24 horas: uno control de 10 ratas y otro de 12 ratas con p-CPA. d) A la hora 16 del proestro durante 16 horas: uno control de 12 ratas y otro de 12 ratas tratadas con p-CPA.

Tabla I. Copulación en ratas en fases de metaestro y diestro. Efecto de la p-clorofenilalanina (300 mg/kg).

Condiciones experimentales	N.º de ratas	Horas en condiciones de copulación	Inseminación	N.º de ratas preñadas	Ciclo ratas que quedan inseminadas	Ciclo ratas que no quedan inseminadas
Control	11	24 horas desde la hora 8 del metaestro	0	0	—	Diestro de 2 a 3 días consecutivos en 6 ratas
p-clorofenilalanina	11	24 horas desde la hora 8 del metaestro	0	0	—	Ciclo normal en 10 ratas. Diestro mantenido 12 días en una rata
Control	10	16 horas desde la hora 16 del diestro	3 (30 %)	0	Diestro de 3 a 5 días consecutivos	Diestro de 2 a 3 días consecutivos en 5 ratas
p-clorofenilalanina	11	16 horas desde la hora 16 del diestro	0	0	—	Diestro mantenido de 2 a 4 días en 9 ratas. Durante 10 a 12 días en 2 ratas

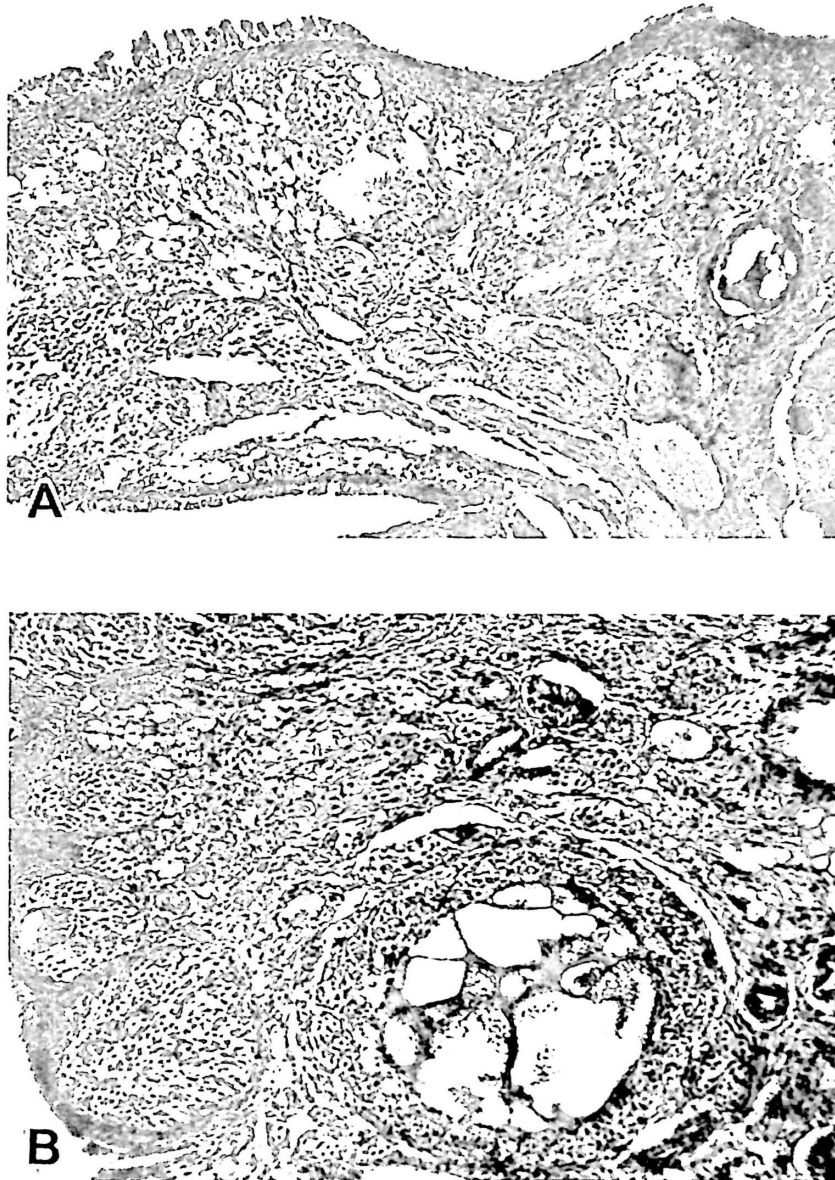


Fig. 1. Sección de ovarios correspondientes a una rata tratada con p-CPA, 48 horas antes del proestro y puesta en condiciones de copulación. Se observan fases de diestro durante ocho días consecutivos, sin fecundación. Se observa extensa luteinización en las dos secciones. En B, folículos que involucionan, con luteinización de la granulosa ($\times 50$).

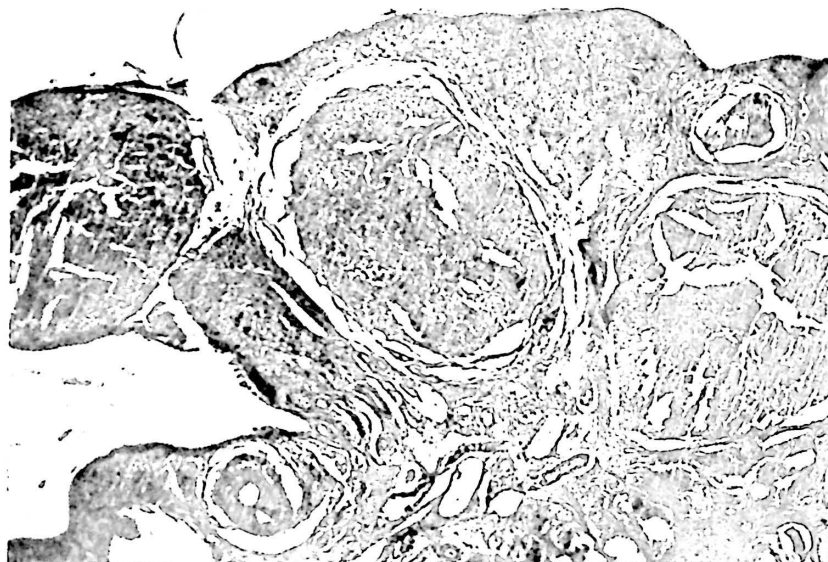


Fig. 2. Sección de ovario correspondiente a una rata tratada con p-CPA, y respuesta semejante a la rata de la figura anterior. Se observan tres cuerpos lúteos ($\times 25$).

Resultados

Fase de metaestro. En los animales tratados con p-CPA no se aprecian dife-

rencias en relación al grupo control. En ningún caso se observan espermatozoides en los frotis vaginales y en consecuencia ninguna rata queda preñada (tabla I).

Tabla II. Copulación en ratas en fase de proestro
Efecto de la p-clorofenilalanina (300 mg/kg).

Condiciones experimentales	N.º de ratas	Horas en condiciones de copulación	Inseminación	N.º de ratas preñadas	N.º embriones por rata	Ciclo ratas que quedan inseminadas	Ciclo ratas que no quedan inseminadas
Control	12	16 horas desde la hora 16 del proestro	10 (83,33 %)	8 (66,66 %)	$11,37 \pm 1,82$	Diestro de 3 a 5 días consecutivos	Normal
p-clorofenilalanina	12	16 horas desde la hora 16 del proestro teórico	0	0	—	—	Diestro mantenido de 3 a 4 días en 7 ratas
Control	10	24 horas desde la hora 8 del proestro	9 (90 %)	8 (80 %)	$10 \pm 1,19$	Diestro	Normal
p-clorofenilalanina	12	24 horas desde la hora 8 del proestro teórico	0	0	—	—	Diestro mantenido de 4 a 8 días en todas las ratas

Fase de diestro. En tres ratas del grupo control se observan espermatozoides en los frotis vaginales. No se ven en ninguna de las ratas tratadas con p-CPA. Ninguna queda preñada. En las que se administró p-CPA, un mayor número presentan fases mantenidas de diestro. En dos, esta fase se mantuvo 10 y 12 días, respectivamente (tabla I).

Fase de proestro. En todas las ratas tratadas 48 horas antes con p-CPA se observa que el frotis de proestro es sustituido por uno típico de diestro, con abundantes leucocitos y esta fase se mantuvo después entre 4 y 8 días.

De las 12 ratas de control puestas 16 horas en condiciones de copulación se observan espermatozoides en 10 y quedan 8 preñadas. En ninguna de las tratadas con p-CPA se observan espermatozoides en los frotis.

De las 10 ratas de control mantenidas 24 horas en condiciones de copulación, se observan espermatozoides en 9 y quedan 8 preñadas. En ninguna de las que se administra p-CPA se observan espermatozoides en los frotis (tabla II).

El estudio histológico de trompas y ovarios de las ratas que mantienen más de 3 días consecutivos fases de diestro, pone de manifiesto la ausencia de óvulos en las trompas, a la vez que el ovario presenta una marcada luteinización (figs. 1 y 2).

Discusión

En las ratas tratadas con p-CPA no se observan espermatozoides en los frotis vaginales, en contraste con lo observado en las de control. Esta diferencia se hace especialmente manifiesta en la fase de proestro. La falta de espermatozoides en los frotis de las ratas tratadas con p-CPA en comparación con las no tratadas, es un índice claro de que no tuvo lugar inseminación y, por tanto, no tuvo lugar un número suficiente de copulaciones (4). Comprobada previamente la capacidad fecun-

dante de los machos, esta modificación es atribuible a una inhibición en la receptividad de las ratas hembras tratadas con p-CPA. No se dispone de datos de observación directa que permitan saber la modificación de otros patrones de conducta reproductora. Diversos trabajos (22, 28, 29, 30) interpretan que tiene lugar aumento de la conducta reproductora en ratas tratadas con p-CPA que era antagonizada por 5-HTP y potenciada por inhibidor de MAO. Otros (31), tratando a ratas con p-CPA y pargilina y estudiando modelos de conducta sexual distintas, llegan a la conclusión de que no se produce aumento de la conducta reproductora, sino que más bien se altera la capacidad para distinguir adecuadamente los patrones sexuales. En la misma línea se interpretan las observaciones en gatos tratados con p-CPA, en los que se aprecia sobre todo una alteración en los mecanismos de percepción (5).

En todos los animales tratados con p-CPA, 48 horas antes del proestro «teórico», se observa una alteración del ciclo. El frotis característico del proestro es sustituido por un frotis típico de diestro y esta fase se prolongó de 4 a 8 días consecutivos en un número importante de las ratas. En el estudio histológico de los ovarios se aprecia abundante luteinización (figura 1), de morfología semejante a los ovarios de ratas tratadas con reserpina, 4 mg/kg en la hora 8 del día de proestro (9). Este aspecto morfológico del ovario probablemente corresponde a pseudoembarazo (1, 3) que puede ser facilitado por el tratamiento con p-CPA (20, 27). Aunque se ha observado que la inseminación vaginal es condición que favorece por mecanismo reflejo la secreción de prolactina y la formación de cuerpo lúteo del embarazo o del pseudoembarazo (1, 3, 21), está probado que puede formarse cuerpo lúteo, por estimulación vaginal sin que haya tenido lugar inseminación (2). A la vez que facilita la luteinización ovárica, la disminución de 5-hidroxitriptamina, por efecto de la p-clorofenilalanina, parece

impedir que se manifieste normalmente la conducta reproductora, probablemente por modificar la secreción de gonadotrofinas hipofisarias.

Resumen

Se estudia el efecto de una sola dosis de p-CPA (300 mg/kg) sobre la reproducción en la rata hembra, administrando el fármaco 48 horas antes de poner en condiciones de copulación, en distintos momentos del ciclo ovárico. En ninguna de las ratas sometidas a tratamiento se observan espermatozoides en los frotis vaginales, mientras que en los respectivos grupos control se aprecian en 30 y 90 % en las fases de diestro y proestro, respectivamente. Los animales tratados con p-CPA presentan fases de diestro mantenidas y luteinización difusa del tejido ovárico. Los resultados se interpretan en el sentido de que una disminución de la 5-HT cerebral, por efecto de la p-CPA, hace disminuir la conducta reproductora de la rata hembra por mecanismos probablemente dependientes de liberación de gonadotrofinas.

Bibliografía

- ARON, C., ASCH, G. y ROOS, J.: *Int. Rev. Cytol.*, **3**, 47, 1968.
- DIAMOND, M.: *Science*, **169**, 995, 1970.
- EVERETT, J. W.: *Endocrinology*, **80**, 145, 1967.
- DE FEO, V. V.: *Endocrinology*, **79**, 440, 1966.
- FERGUSON, J., HENRIKSEN, S., COHEN, H., MITCHELL, G., BARCHAS, J. y DEMENT, W.: *Science*, **168**, 499, 1970.
- FRASCHINI, F. y MARTINI, L.: En «The Hypothalamus» (L. Martini, M. Motta, F. Fraschini, eds.). Academic Press, Nueva York, 1970, pp. 529-549.
- GESEA, G. L., TAGLIAMONTE, A., TAGLIAMONTE, P. y BRODIE, B. B.: *Nature*, **227**, 616, 1970.
- GONZÁLEZ-BARÓN, S., JIMÉNEZ-VARGAS, J. y LÓPEZ-GARCÍA, G.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **15**, 251, 1971.
- GONZÁLEZ-BARÓN, S., JIMÉNEZ-VARGAS, J. y HERNÁNDEZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **29**, 189, 1973.
- GONZÁLEZ-BARÓN, S., JIMÉNEZ-VARGAS, J. y HERNÁNDEZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **29**, 279, 1973.
- JEQUIER, E., LOVENBERG, W. y SJOERDSMA, A.: *Mol. Pharmacol.*, **3**, 274, 1967.
- JIMÉNEZ-VARGAS, J., TEJERA, V. y GONZÁLEZ-BARÓN, S.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **14**, 123, 1970.
- JIMÉNEZ-VARGAS, J., GONZÁLEZ-BARÓN, S. y HERNÁNDEZ, F.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **17**, 1, 1973.
- KAMBERI, I. A., MICAL, R. S. y PORTER, J. C.: *Endocrinology*, **87**, 1, 1970.
- KAMBERI, I. A., MICAL, R. S. y PORTER, J. C.: *Endocrinology*, **88**, 1288, 1971.
- KIEFFER, J. D. y HARPER, M. J. K.: *Nature*, **231**, 125, 1971.
- KOE, B. K. y WEISSMANN, A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **154**, 499, 1966.
- KORDON, C., JAVOY, F., VASSENT, G. y GLOWINSKI, J.: *Europ. J. Pharmacol.*, **4**, 169, 1968.
- KORDON, C. y GLOWINSKI, J.: *Neuropharmacology*, **11**, 153, 1972.
- MAANEN, J. H. VAN y SMELIK, P. G.: *Neuroendocrinology*, **3**, 177, 1968.
- MCGILL, T. E. y CONGLIN, R. C.: *J. Reprod. Fertil.*, **21**, 215, 1970.
- MEYERSON, B. J.: *Ann. Med. exp. Fenn.*, **46**, 394, 1968.
- MEYERSON, B. J. y LEWANDER, T.: *Life Sci.*, **9**, Part I, 661, 1970.
- REITER, R. J.: *Endocrinol. Exp.*, **6**, 3, 1972.
- RODGES, C. B.: *Endocrinology*, **88**, 433, 1971.
- SCHNEIDER, H. P. G. y MCCANN, S. M.: *Endocrinology*, **86**, 1127, 1970.
- SHAIKH, A. A.: *Biol. Reprod.*, **3**, 31, 1970.
- SHEARD, M. H.: *Brain Research*, **15**, 524, 1969.
- SHILLITO, E.: *Brit. J. Pharmacol.*, **35**, 305, 1970.
- TAGLIAMONTE, A., TAGLIAMONTE, P., GESEA, G. L. y BRODIE, B. B.: *Science*, **166**, 1433, 1969.
- WHALEN, R. y LUTTGE, W.: *Science*, **169**, 1000, 1970.