

Efecto de la actividad copulatoria en distintos períodos del ciclo ovárico sobre la ovulación y la reproducción en la rata

J. Marcó*/ J. Larralde*

RESUMEN

Se estudia el efecto sobre la ovulación y la reproducción de la actividad copulatoria durante la tarde del diestro, el proestro o el estro. Se valora la inseminación, fecundación, número de embriones y la ovulación.

Se observa que la actividad copulatoria aumenta la ovulación y el número de embriones por rata, siendo el aumento significativo cuando el período de copulación comprende la tarde del proestro y especialmente a partir de la hora 16, mientras que el efecto es pequeño en la tarde de diestro y en el estro.

Introducción

En investigaciones anteriores realizadas en nuestro laboratorio, se había observado que la copulación es capaz de neutralizar el efecto inhibitorio sobre la ovulación de la reserpina^{8, 9, 14} y de la p-clorofenilalanina^{11, 18, 20}. En un trabajo reciente sobre el efecto de la copulación en la maduración folicular y la ovulación, se había encontrado que la actividad copulatoria facilita el desarrollo folicular y la ovulación²¹.

A efectos de valorar la actividad copulatoria tiene gran importancia el período preovulatorio en que los animales permanecen en condiciones de copulación, ya que existen diversos períodos que influyen en distinto grado en las secreciones

hormonales. En la parte inicial del ciclo, existe un período denominado de activación hipotalámica-hipofisaria, que comprende la tarde de diestro y la mañana de proestro, durante el cual se incrementa progresivamente la reactividad de la adenohipófisis a las hormonas reguladoras hipotalámicas (GnRH), llegando a aumentar la actividad secretora de la hipófisis hasta cinco veces²⁶. Durante este período también aumenta progresivamente la sensibilidad del hipotálamo a los factores hormonales y nerviosos que sobre él inciden, como son los estrógenos y la progesterona secretados por los ovarios y que actúan tanto a nivel del hipotálamo como de la hipófisis²². Hay multitud de trabajos que indican que el hipotálamo es un centro integrador de estímulos hormonales y nerviosos que influyen en la secreción de los factores de regulación hipotalámicos^{3, 6, 10, 17, 23, 24, 26, 279}, y que la estimulación o lesión de diversas zonas del SNC, puede provocar alteraciones en la función ovárica^{4, 16, 25, 26}. Durante este período de activación, diversos estímulos hormonales y nerviosos, como son la cópula o estimulación vaginal artificial, pueden incrementar la secreción de FSH.

Posteriormente entre la hora 14 y 16 de proestro, se produce un fuerte incremento de la reactividad de la adenohipófisis en el intervalo que precede a la descarga ovulatoria de LH, que se denomina período crítico de activación de la LH¹⁶. Hacia la hora 18 de proestro, se alcanzan los máximos niveles de LH en plasma, que siempre son superiores a los necesarios para provocar la ovulación en los folículos que están ya desarrollados⁵, y poco después se inicia una brusca disminución de los niveles de LH. Sin embargo, entre la

hora 19 y 21 de proestro, existe un período potencial de prolongación de la descarga de LH¹, durante el cual diversos estímulos como la copulación o la estimulación vaginal artificial, pueden mantener altos los niveles de LH^{1, 23}, facilitando la ovulación en los folículos que alcancen su desarrollo adecuado durante este período. Por último en las primeras horas de estro, existe un período en que persiste la descarga de FSH en un grado que depende de diversos estímulos que pueden incrementar la liberación de FSH^{2, 7}.

Material y métodos

Se utilizan 93 ratas Wistar hembras de peso aproximado de 200 g y machos de 300 g de comprobada capacidad de fecundación, mantenidas en condiciones standard de iluminación artificial controlada de 14 horas de luz y 10 de oscuridad, con temperatura constante de 20° C y comida y agua ad libitum. Se practica control del ciclo ovárico por frotis vaginales diarios a la misma hora y se utilizan sólo las ratas con ciclo regular por lo menos tres ciclos antes de las experiencias. Todos los animales antes de comenzar los experimentos han estado por lo menos un mes en condiciones de iluminación controlada.

Estudio de la reproducción

Cada rata hembra se coloca en jaula individual con un macho en una hora y fase concreta del ciclo. El frotis vaginal del día siguiente a permanecer en condiciones de copulación tiene especial interés, ya que la presencia de espermatozoides es

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

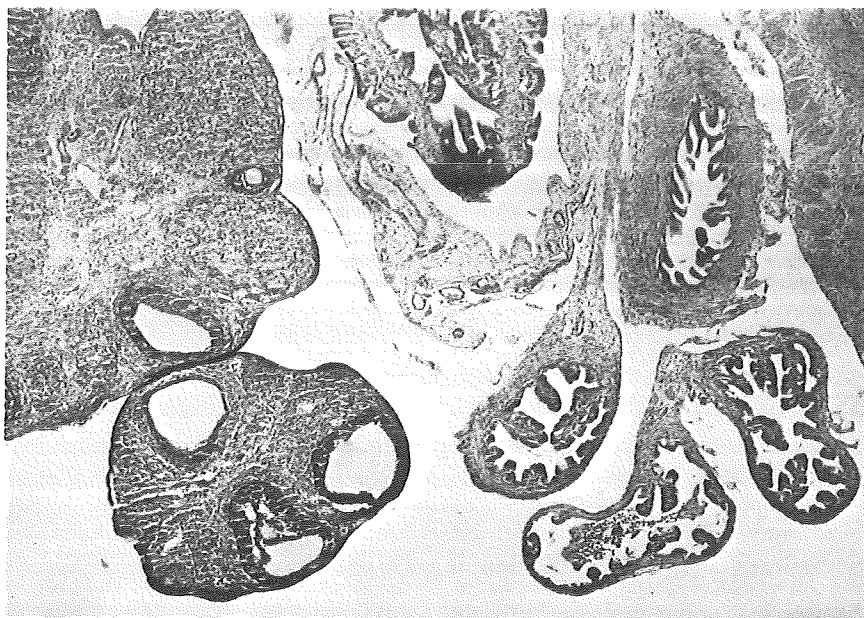


Fig. 1.—Sección de ovario y trompa de rata control sacrificada a la hora 16 de estro. Se aprecian folículos grandes en el ovario y un óvulo en la trompa ($\times 2,5$).

comprobación de haberse producido inseminación y sirve como valoración de la conducta reproductora. Las hembras se sacrifican a los 15 días de ser mantenidas en condiciones de copulación y se realiza el recuento de embriones.

Estudio de la ovulación

Las ratas se sacrifican por decapitación a la hora 16 de estro, se disecan las trompas, se realizan cor-

tes seriados de 10 m de espesor (fig. 1) y se tiñen con hematoxilina-eosina para el recuento de óvulos^{8, 12, 15, 19}.

A efectos de valorar la actividad copulatoria en distintos períodos del ciclo, se realiza la siguiente distribución de grupos experimentales:

Grupo control, 13 ratas que no permanecen en condiciones de copulación y que son sacrificadas a la hora 16 del estro para recuento de óvulos.

Grupo 1, 13 ratas en condiciones de copulación en primer lugar de 14 de diestro a 14 de proestro, que corresponde al período de activación hipotalámica hipofisaria de la parte inicial del ciclo, y luego de 9 de estro a 9 de metaestro para recuento de embriones a los 15 días.

Grupo 2, 13 ratas en condiciones de copulación de 16 de diestro a 16 de proestro, lo que comprende las horas de activación hipotalámica-hipofisaria y el período crítico de activación de la LH. Se sacrifican a las 16 de estro para el recuento de óvulos.

Grupo 3, 10 ratas en copulación de 9 de proestro a 9 de estro, lo que comprende las cinco horas previas al período crítico, el período crítico, el período potencial de prolongación de la descarga de LH y las horas del estro en que persiste la descarga de FSH. Se sacrifican a los 15 días para recuento de embriones.

Grupo 4, 14 ratas con horario similar al grupo anterior, pero sacrificadas a las 16 de estro para recuento de óvulos.

Grupo 5, 10 ratas en copulación de 16 de proestro a 9 de estro, lo que corresponde al período potencial de prolongación de la descarga de LH y las horas de estro en que persiste la descarga de FSH, para realizar recuento de embriones.

Grupo 6, 10 ratas en condiciones de copulación de 9 de estro a 9 de metaestro para recuento de embriones, y que no comprende ningún período de activación.

Tabla I. EFECTO DE DISTINTAS CONDICIONES DE COPULACION SOBRE LA REPRODUCCION Y LA OVULACION EN RATAS SACRIFICADAS A LA HORA 16 DE ESTRO

Condiciones de copulación		N.º de ratas	N.º de ratas que copulan	N.º ratas preñadas	N.º embriones por rata	N.º óvulos por rata
Control	—	13	—	—	—	9,15 $\pm$ 0,54
Grupo 1	Desde 14 de diestro a 14 de proestro y desde 9 de estro a 9 de metaestro	13	11 (84,61 %)	10 (76,92 %)	9,80 $\pm$ 0,36	—
Grupo 2	Desde 16 de diestro a 16 de proestro	13	—	—	—	10,0 $\pm$ 0,25
Grupo 3	Desde 9 de proestro a 9 de estro	10	8 (80 %)	8 (80 %)	10,13 $\pm$ 0,48	—
Grupo 4	Desde 10 de proestro a 10 de estro	14	—	—	—	10,43 $\pm$ 0,31**
Grupo 5	Desde 16 de proestro a 9 de estro	10	8 (80 %)	8 (80 %)	11,38 $\pm$ 0,50*	—
Grupo 6	Desde 9 de estro a 9 de metaestro	10	10 (100 %)	10 (100 %)	9,50 $\pm$ 0,43	—

* 0,005 > p > 0,001 respecto al control y 0,02 > p > 0,01 respecto al grupo 1 y 6.

** 0,05 > p > 0,01 respecto al control.

Los resultados se expresan con la media y la desviación de la media ($X \pm S_x$) y el estudio estadístico se realiza mediante la *t* de Student.

Resultados

La actividad copulatoria aumenta el número de óvulos en la trompa. El aumento es significativo en el grupo 4 en condiciones de copulación de 10 de proestro a 10 de estro, lo que puede atribuirse a la prolongación del nivel de descarga de LH por efecto copulatorio en el período potencial de prolongación de la descarga de LH. El aumento no llega a ser significativo en el grupo 2, de 16 de diestro a 16 de proestro, que comprende el período de activación hipotalámica-hipofisaria y el período crítico de activación de la LH.

El número de embriones por rata en todos los casos es superior al número de óvulos del grupo control, pero el aumento es muy pequeño en el grupo 6, de 9 de estro a 9 de metaestro, que no comprende ningún período de activación y en el grupo 1, de 14 de diestro a 14 de proestro y de 9 de estro a 9 de metaestro, que comprende sólo el período de activación hipotalámica-hipofisaria de la parte inicial del ciclo. El valor obtenido es semejante al de óvulos que se observa en el grupo 2 que tiene un horario similar, de 16 de diestro a 16 de proestro.

El número de embriones aumenta en el grupo 3, de 9 de proestro a 9 de estro, que comprende parte del período de activación hipotalámica-hipofisaria, el período crítico, el período de prolongación potencial de la descarga de LH y el período de descarga de FSH del estro. El valor obtenido es similar al número de óvulos del grupo 4 que tiene un horario semejante.

En el grupo 5, de 14 de proestro a 9 de estro, que comprende el período crítico, el período potencial de prolongación de la LH y las horas del estro en que persiste la descarga de FSH, presenta un aumento significativo del número de embriones por rata respecto al control, al grupo 6 que no comprende ningún período de activación y el grupo 2 que sólo comprende el período de activación hipotalámica-hipofisaria en la parte inicial del ciclo.

Discusión

En la rata hembra la receptividad comienza en las primeras horas de

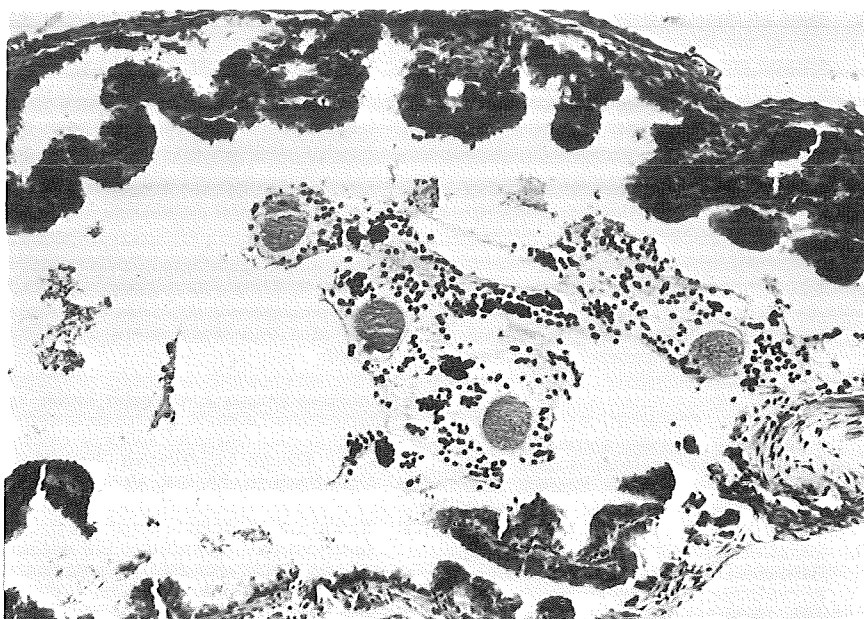


Fig. 2.—Sección de trompa en la que se aprecian cuatro óvulos con su cúmulo ovígeno ($\times 10$).

la tarde del proestro y se prolonga durante todo el día de estro⁶. Los resultados expuestos indican que en la rata la actividad copulatoria en la tarde de proestro, en intervalos que comprende el período crítico de la activación de la LH y el período potencial de prolongación de la descarga de LH, aumenta significativamente la ovulación y el número de embriones por rata. El mayor incremento se obtiene cuando la actividad copulatoria tiene lugar en el período potencial de prolongación de la descarga de LH, entre las 19 y 21 horas de la tarde de proestro, período durante el cual la prolongación de niveles elevados de LH, puede permitir la ovulación en folículos que pocas horas antes, durante el período crítico, no habían alcanzado el desarrollo necesario para la rotura folicular.

El aumento observado es pequeño en el grupo 6 en condiciones de copulación de las 9 del estro a las 9 del metaestro, que no comprende ningún período de activación, y en el grupo 1 que comprende sólo el período de activación hipotalámica-hipofisaria. El aumento es mayor en el grupo 2, de 16 de diestro a 16 de proestro, que comprende ya el período crítico de activación de la LH y en el grupo 3 y 4 que comprenden además el período potencial de prolongación de la descarga de LH, siendo el aumento significativo en el grupo 4. Sin embargo, como la actividad copulatoria en estos grupos tiene lugar fundamentalmente en

períodos previos al de prolongación potencial de la descarga de LH, el aumento observado es menor que en el grupo 5 de 16 de proestro a 9 de estro, que es el que presenta los máximos valores ya que la actividad copulatoria tiene lugar principalmente en el período potencial de prolongación de la descarga de LH. En el grupo 4 el incremento es también significativo, ya que la actividad copulatoria se inicia en períodos cercanos al de prolongación potencial de la descarga de LH.

Los resultados expuestos sobre el efecto de distintos períodos de actividad copulatoria en la reproducción y la ovulación de la rata, son en la interpretación discutibles en algunos aspectos, pero es un hecho claro que en el estudio del ciclo ovárico es necesario tener en cuenta los factores reflejos que se desarrollan espontáneamente en la actividad copulatoria en los distintos períodos preovulatorios.

Bibliografía

1. Blake CA. *Differentiation between the critical activation period and the potential activation period for neurohumoral stimulation of LH release in proestrous rats.* Endocrinology, 95, 572-78, 1974.
2. Blake CA. *Neurohumoral control release of LH and FSH.* Clin Obstet Gineacol, 5, 305-328, 1978.
3. Davidson JM, Smith ER, Bowers CY. *Effects of mating on gonadotropin release in the rat.* Endocrinology, 93, 1185-1192, 1973.

4. Dyer RG, Mayes LC. *Electrical stimulation of the Hypothalamus: new observations and the parameters necessary for ovulation in rats anaesthetized with pentobarbitone during the prooestrous "Critical Period"*. Exp Brain Res, 33, 583-592, 1978.
5. Everett JW. *Central neural control of the reproductive functions of adenohipophysis*. Physiol Rev, 44, 373-431, 1964.
6. Fink G. *Control of the ovarian cycle in the rat*. En "Ovulation in the Human", editado por Crosignani PG y Mishell DR, pp. 95-114. Academic Press. New York, 1976.
7. Gay VL y Tomacari RL. *Follicle-stimulating hormone secretion in the female rat: cycle release is dependent on circulation androgen*. Science, 184, 75-77, 1974.
8. González-Barón S, Jiménez Vargas J, Hernández F. *Efectos de la reserpina en la ovulación*. Rev Esp Fisiol, 29, 189-196, 1973.
9. González-Barón S, Jiménez Vargas J, Hernández F. *Factores reflejos que modifican el efecto de la reserpina sobre la ovulación*. Rev Esp Fisiol, 29, 279-288, 1973.
10. González-Barón S, Marcó J, Jiménez-Vargas J. *Factores serotoninérgicos y adrenérgicos que influyen en la ovulación y la reproducción en la rata*. Rev Med Univ Navarra, 19, 1-16, 1975.
11. González-Barón S, Jiménez-Vargas J, Marcó J. *Efecto de la p-cloro-fenilalanina sobre la reproducción en la rata*. Rev Esp Fisiol, 31, 63-68, 1975.
12. González-Barón S, Jiménez-Vargas J, Marcó J, Hernández F. *Mecanismos serotoninérgicos en el ciclo ovárico*. Rev Esp Fisiol, 32, 29-32, 1976.
13. González-Barón S, Jiménez-Vargas J, Marcó J, Ribas B. *Efecto de la p-clorofenilalanina sobre la reproducción de ratas en distintas condiciones de iluminación*. Rev Esp Fisiol, 32, 301-306, 1976.
14. Jiménez-Vargas J, Tejera V, González-Barón S. *Efectos de la anfetamina y la reserpina sobre la ovulación en la rata*. Rev Med Univ Navarra, 14, 123-127, 1970.
15. Jiménez-Vargas J, González-Barón S, Hernández Calvo, F. *Efectos de la anfetamina y la reserpina sobre la ovulación. Estudio cuantitativo*. Rev Med Univ Navarra, 17, 1-8, 1973.
16. Kawakami M, Ando S. *Forebrain structures involved in ovulation and release of serum LH and FSH in proestrous rats*. Brain Res, 191, 99-108, 1980.
17. Kordon C. *Controle nerveux du cycle ovarien*. Arch Anat Microsc Morphol Exptl, 56 (suppl. 3-4), 458-477, 1968.
18. Marcó J, Tosar A, González-Barón S, Jiménez-Vargas J. *Factores reflejos que modifican el efecto de la p-Clorofenilalanina sobre la ovulación y reproducción en la rata*. Rev Esp Fisiol, 34, 81-86, 1978.
19. Marcó J, Jiménez-Vargas J. *Modificación del ciclo ovárico, ovulación y reproducción en la rata por p-clorofenilalanina en períodos cercanos a la ovulación*. Rev Esp Fisiol, 35, 63-74, 1979.
20. Marcó J, Jiménez-Vargas J. *Supresión por copulación del efecto inhibitor de la p-clorofenilalanina sobre la ovulación en la rata*. Rev Esp Fisiol, 35, 75-84, 1979.
21. Marcó J, Jiménez-Vargas J y Guindo Marín, N. *Efecto de la copulación sobre la maduración folicular y ovulación en la rata*. Rev Esp Fisiol, 37, 2, 1981 (en prensa).
22. McCann SM, Fawcett CP, Krulich. *Hypothalamic hypophysial releasing and inhibiting hormones*. En "Endocrine Physiology", V. 5, pp. 31-65. Editado por McCann Medical and Technical Press. Lancaster. England.
23. Moss RL, Cooper KJ. *Temporal relationship of spontaneous and coitus-induced release of luteinizing hormone in the normal cyclic rat*. Endocrinology, 92, 1748-53, 1973.
24. Rodgers CH. *Influencia of copulation on ovulation in the cycling rat*. Endocrinology, 88, 433-436, 1971.
25. Taleisnik S, Sherwood MRC, Raisman G. *Dissociation of spontaneous and mating induced ovulation by frontal hypothalamic deafferentations in the rat*. Brain Res, 169, 155-162, 1979.
26. Wuttke W. *Neuroendocrine mechanisms in reproductive physiology*. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 76, 59-93, 1976.
27. Zarrow M, Clark JH. *Ovulation following vaginal stimulation in a spontaneous ovulator and its implications*. J Endocrinol, 40, 43-52, 1968.

EFFECT OF COPULATION ON OVULATION AND REPRODUCTION AT DIFFERENT PHASES OF THE OVARIAN CYCLE OF THE RAT

Summary

The effect of copulation on ovulation and reproduction during the diestrus, proestrus or estrus phases was compared by evaluating insemination, fertilization, number of embryos and ovulation.

Copulation increases both ovulation and number of embryos per rat. This increase was significant when copulation occurred during the late of proestrus phase, mainly after the 16 hours of the proestrus phase. The copulation effect was lower during the late hours of diestrus and during the whole estrus phase.