

**TRABAJO DEL INSTITUTO DE BIOLOGIA ANDINA Y DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**ACCION LETAL DE LA HIPERLUTEINIZACION
OVARICA Y DEL EXCESO DE PROGESTERONA
SOBRE EMBRIONES Y FETOS**

M. SAN MARTÍN, R. PARRA, E. ROSALES Y M. LÓPEZ

Es conocido que la castración, en especies como el conejo, interrumpe la gestación. En cambio, conejas preñadas a las que se practica una ovariectomía bilateral continúan gestando si se les administra dosis adecuadas de extractos luteicos o progesterona (1). Sin embargo, una gran mayoría de autores plantea la posibilidad de que el exceso de esa hormona o la hiperluteinización ovárica podrían ser responsables de una alta mortalidad embrionaria (2-9). Para probar esta acción letal hemos realizado nuestro trabajo en diversos momentos de la actividad reproductiva, ya sea, administrando progesterona en animales previamente castrados o induciendo, por medio de gonadotropinas, la hiperluteinización ovárica,

ANIMALES Y METODOS

Los animales usados fueron conejas adultas provenientes, en su mayoría, del criadero del laboratorio y un número reducido que se adquirió a vendedores locales. Todos los animales pertenecían a poblaciones cruzadas al azar.

El crecimiento folicular se indujo en cada animal con un total de 120 U.I. de gonadotropina equina (Gestyl) que se administró en for-

Nuestros agradecimientos a la casa N.U. Organon, Holanda, por haber-nos proporcionado las gonadotropinas y a la casa Ciba, Suiza, por el alfa-estradiol y la progesterona pura que hemos utilizado en este trabajo.

ma fraccionada por vía subcutánea (40 U.I. cada 24 horas). La ovulación se estimuló inyectando en la vena marginal de la oreja una dosis de 500 ó de 1000 U.I. de gonadotropina coriónica humana (Pregnyl). En las conejas preñadas el tratamiento con Gestyl se inició el 7º y 17º día de preñez y la ovulación se indujo el 10º y 20º día respectivamente.

El número de puntos de ovulación o de folículos maduros se apreció por examen directo de los ovarios previa laparotomía y la inseminación, en los animales preñados, se realizó por vía intratubaria en el momento de la laparotomía utilizando sémenes recolectados en material aséptico.

Los animales castrados fueron tratados con dos niveles de progesterona. En uno, se administró la dosis total de aproximadamente 120 mgrs. (1 mg. diario los 10 primeros días, y 5 mgrs. diarios por el resto de la gestación) y en el otro nivel, la dosis total fué de más o menos 270 mgrs. (5 mgrs. diarios los 10 primeros días y 10 mgrs. diarios por el resto de la gestación). En los casos que la castración se efectuó en animales con 10 y 20 días de preñez se administró 5 ó 10 mgrs. diarios de progesterona, desde el día de la castración, hasta el momento que los animales se sacrificaron. La fuente hormonal fué una mezcla de progesterona pura y un producto comercial, ambos de la casa Ciba. A esta mezcla se le agregó 1 mgr. de alfa-estradiol puro por cada 750 mgrs. de progesterona.

RESULTADOS

CUADRO I
CONEJAS EN CELO A LAS QUE SE INDUCIA LA PREÑEZ

TRATAMIENTO	Nº ANIMALES	NUMERO TOTAL PUNTOS OVULACION	NUMERO TOTAL CRIAS	CRIAS %
Ninguno	11	81	46	56.79
Ovulación inducida	11	80	65	78.75
Crecimiento folicular y ovulación inducida	11	165	10	6.06
Castración bilateral y un total de 120 mgrs. de progesterona	11	83	51	61.44
Castración bilateral y un total de 270 mgrs. de progesterona	11	78	6	7.59

En estos grupos la inseminación se realizó por monta natural, salvo los casos de ovulación inducida por tratamiento hormonal en los que se hizo inseminación artificial. La laparatomía, para contar los puntos de ovulación, y, la castración, se efectuaron 24 horas después de la inseminación.

El análisis estadístico, por medio de la probabilidad del valor de "t", dió:

VALOR DE "t"

GRUPOS QUE SE COMPARAN	SIGNIFICANCIA ESTADISTICA
Control - Ovulación inducida	Sin significancia.
Control - Crecimiento folicular y ovulación inducida	Con significancia.
Control - Castración bilateral y dosis bajas de progesterona	Sin significancia.
Control - Castración bilateral y dosis altas de progesterona	Con significancia.

CUADRO II

CONEJAS PREÑADAS A LAS QUE SE INDUCIA CRECIMIENTO FOLICULAR Y OVULACION AL FINAL DEL PRIMERO Y SEGUNDO TERCIO DE LA GESTACION.

NUMERO DE ANIMALES	DIAS DE PRENEZ	Nº DE EMBRIONES O FETOS EN LOS CUERPOS UTERINOS	Nº DE FOLICULOS EN LOS OVARIOS	RESULTADOS 10 DIAS DESPUES DE LA LAPARATOMIA
10	10	62	123	Hiperluteinización ovárica y muerte embrionaria total
10	20	64	104	id. id. id.

En ambos grupos el crecimiento folicular se indujo con un total de 120 U.I. de Gestyl (40 U.I. cada 24 horas). La ovulación se estimuló, en 5 animales de cada grupo, con 500 U.I. de Pregnyl y en los 5 restantes, con 1000 U.I.. La laparatomía se efectuó inmediatamente después de la inyección de Pregnyl y el sacrificio de los animales se efectuó a los 10 días de la intervención quirúrgica.

CUADRO III

CONEJAS PREÑADAS A LAS QUE SE INDUCIA CRECIMIENTO FOLICULAR Y OVULACION AL FINAL DEL PRIMER TERCIO DE LA GESTACION Y SE SOMETIAN A DIVERSOS TRATAMIENTOS

Nº DE ANIMALES	TRATAMIENTO	Nº DE EMBRIONES		RESULTADOS 10 DIAS DESPUES DE LA LAPARATOMIA
		PRESENTES EN LOS CUERNOS UTERINOS		
3	Cauterización folicular	22		Hiperluteinización ovárica y muerte embrionaria total.
7	Castración unilateral	40		id. id. id.
6	Castración bilateral y dosis alta de progesterona (10 mgrs. diarios).	31		Muerte embrionaria total.
6	Castración bilateral y dosis baja de progesterona (5 mgrs. diarios).	38		Fetos vivos en 4 animales.

En estos grupos el tratamiento inductor del crecimiento folicular y la ovulación fué constante para todos los animales. La cauterización folicular se realizó con un termocauterio eléctrico.

CUADRO IV

CONEJAS PREÑADAS CONTROLES

Nº DE ANIMALES	TRATAMIENTO	RESULTADOS
4	Inyecciones de agua destilada y laparatomía al final del primer tercio de la gestación.	Fetos vivos 10 días después.
4	Crecimiento folicular y ovulación inducida al final del primer tercio de la gestación e inseminación intratubaria.	Huevos en segmentación en las trompas y fetos vivos 48 horas después de la laparatomía.
4	Crecimiento folicular y ovulación inducida al final del primer tercio de la gestación.	Hiperluteinización ovárica y muerte embrionaria total 10 días después del tratamiento hormonal.

En los casos que se indujo crecimiento folicular y ovulación las dosis de gonadotropinas fueron constantes en todos los animales.

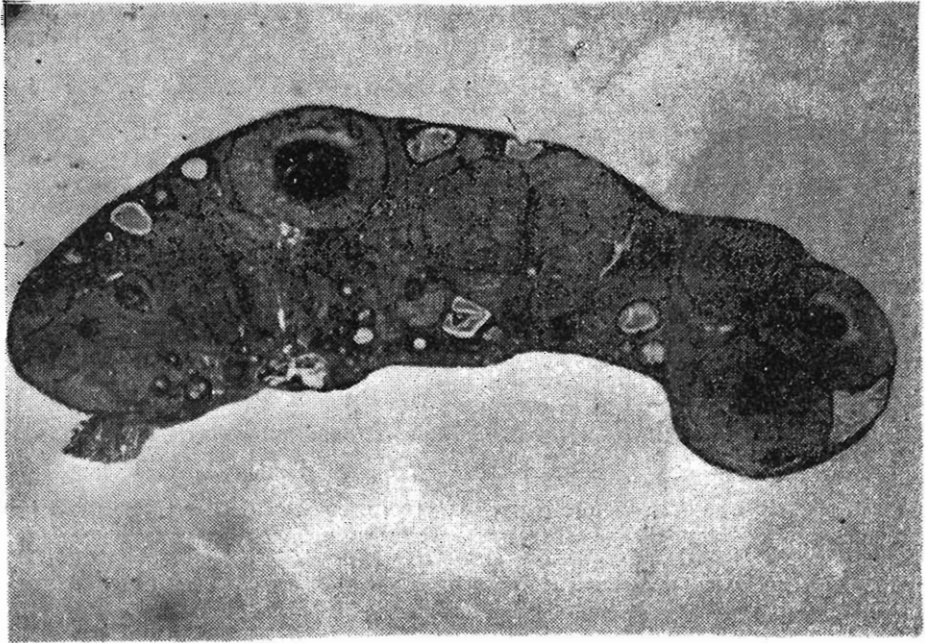
DISCUSION

Al estudiar la preñez en conejos que se castran se ha llegado a determinar que 1 mgr. diario de progesterona, durante los primeros días de gestación, y 5 mgrs. diarios, en estadíos más avanzados, o sea un total aproximado de 120 mgrs., sería la cantidad de progesterona capaz de mantener la preñez (10-12). En nuestro trabajo, Cuadro I, hemos obtenido resultados similares, en conejas castradas después de la fertilización, al emplear un equivalente a más o menos 120 mgrs. de progesterona de una mezcla que contenía alfa-estradiol y progesterona en la relación 1 a 750. Se utilizó esta mezcla hormonal teniendo en cuenta la acción sinérgica conocida de la progesterona y los estrógenos para mantener la preñez (11-18). Sin embargo, al elevar a 270 mgrs. la cantidad total de progesterona inyectada o al producir una hiperluteinización ovárica aumentando, por tratamiento gonadotrópico, el número de folículos que ovulan, se observa una reducción marcada del número de crías que nacen. El estudio estadístico de estos resultados, comparándolos con los controles, nos da probabilidades de "t" (19) que en ambos casos tienen significancia estadística y por lo tanto, permiten aceptar que un exceso de progesterona, ya sea de origen exógeno o endógeno, tendría una acción letal sobre el desarrollo embriológico, siendo remarcable que basta duplicar el número de cuerpos amarillos presentes en los ovarios para obtener esa acción letal.

Para observar si esa posible acción letal de la progesterona se presenta en diversos momentos de la gestación, se ha inducido, por estímulos gonadotrópicos, el crecimiento folicular y la ovulación en conejas que estaban al final del primero y segundo tercio de la gestación. En estos animales, inmediatamente después de la inyección endovenosa de gonadotropina coriónica humana que se administraba para producir la ovulación, se practicó una laparatomía con el objeto de contar los folículos maduros presentes en ambos ovarios e inyectar en cada trompa 0.1 c.c. de semen puro.

En el Cuadro IV se observa que el trauma quirúrgico y el hecho de inyectar no son capaces de interrumpir la preñez y que, en los casos

FOTOGRAFIA I



Vista panorámica de ovario que muestra cuerpos amarillos de preñez (10 días) y de ovulación inducida.

de inducir el crecimiento folicular y la ovulación, 48 horas después de la laparatomía aún se encuentran vivos los fetos de la gestación previa y que los óvulos resultantes del crecimiento folicular y ovulación inducida muestran una segmentación normal para su edad.

En cambio, el Cuadro II muestra que 10 días después de la laparatomía existe una mortalidad embrionaria de 100 % en todas las conejas preñadas a las que se indujo el crecimiento folicular y ovulación, mortalidad que va asociada a una hiperluteinización ovárica. Al efectuar diversos tratamientos en conejas con 10 días de preñez, Cuadro III, con el fin de observar si esa hiperluteinización ovárica era responsable de la mortalidad embrionaria, se constató que sólo había sobrevivencia fetal en el grupo de animales con castración bilateral y que recibían una dosis diaria equivalente a 5 mgrs. de progesterona. La cauterización de los folículos maduros, la castración unilateral y la castración bilateral, asociada a la administración de 10 mgrs. diarios de progesterona, no dieron resultados favorables, encontrándose, en los ca-

sos de cauterización folicular y en las castraciones unilaterales, que siempre se producía la hiperluteinización ovárica. En cuanto a los óvulos, resultantes del tratamiento gonadotrópico y fertilizados por vía intratubaria, ningún animal mostró que sobre la gestación previa al tratamiento se hubiera realizado una nueva implantación, aún, en los casos que se obtuvo sobrevivencia fetal.

El mecanismo íntimo de este efecto letal de la progesterona, como lo plantean distintos autores, podría deberse a una acción sobre las estructuras vasculares de la placenta que alteraría el intercambio embriionario (2); a una perturbación de los sistemas enzimáticos del trofoblasto (20-23); a una acción directa sobre el mismo embrión o feto (9); a un desequilibrio de la relación progesterona-estrógenos (11-18), pero el haber conseguido mantener la preñez al tratar animales castrados con una mezcla de progesterona y alfa-estradiol en la proporción 750:1, hace pensar que, por lo menos en los animales castrados, este mecanismo no ha jugado un papel principal. En cuanto al efecto letal, en relación a huevos de ovulaciones inducidas en animales preñados, puede que sea una consecuencia de condiciones fisiológicas inadecuadas del trato reproductivo para que se realice la implantación, en forma similar a lo que ocurre cuando se transplantan huevos que, en edad, no corresponden a la fase secretoria del receptor (24). También, se podría relacionar con el alto porcentaje de piometras, que otros autores observan en la inseminación intratubaria (25), pero reduciendo al mínimo la contaminación del material con que se colecta el semen e inyectando en las trompas pequeños volúmenes, de manera de no producir una distensión exagerada, los piometras sólo se presentan en muy contados casos (26), fuera, que en nuestra casuística, no están incluidos los 6 animales en los que se observó esta complicación.

S U M A R I O

El exceso de progesterona y la hiperluteinización ovárica al parecer producen muerte embrionaria, no sólo en gestaciones que se inician concomitantemente al exceso endógeno o exógeno, de progesterona, sino también, en gestaciones que existían desde antes de producirse la sobretasa hormonal.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— ALLEN W. M. y CORNER G. W.— *Amr. J. Physiol.* 88: 340, 1929.
 - 2.— PAULOV E. F.— *Zj. Ob. Biol., Moscow.* 10: 450, 1949.
 - 3.— SNYDER F. F. y WISLOCKI G. B.— *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 49: 106, 1931.
 - 4.— MURPHREE R. L., BLACK W. G., OTTO G. y CASIDA L. E.— *Endocrinology.* 49: 474, 1951.
 - 5.— ROWLANDS I. y WELLCOME W.— *J. Endocrinology.* 6: 184, 1949.
 - 6.— WARWICK E. J., MURPHREE R. L., CASIDA L. E. y MEYER R. K.— *Ant. Rec.* 87: 278, 1943.
 - 7.— HALL O. y DEVIS D. E.— *Tex. Rep. Biol. Med.* 8: 564, 1950.
 - 8.— CHAMBON Y.— *Comp. Rend. Soc. de Biol., París.* 143: 753, 1949.
 - 9.— KARNOFSBY D. A., PETER JAY HAMRE y GAIL HYSOM.— *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 79: 641, 1952.
 - 10.— ALLEN W. M. y HEEBEL G. P.— *Am. J. Physiol.* 125: 31, 1939.
 - 11.— COURRIER R. y KEHL R.— *C. R. Soc. Biol., París.* 127: 529, 1938.
 - 12.— COURRIER R. y KEHL R.— *C. R. Soc. Biol., París.* 128: 188, 1938.
 - 13.— ALLEN W. M.— *Sym. on Quant. Biol.* 5: 66, 1937.
 - 14.— PINCUS G. y WERTHESEN N. T.— *Am. J. Physiol.* 124: 448, 1938.
 - 15.— CHANG M. C.— *Endocrinology* 48: 17, 1951.
 - 16.— KEHL R. y CHAMBON Y.— *C. R. Soc. Biol., París.* 143: 1169, 1949.
 - 17.— ACRILL S. C., RAY E. W. y LYONS W. R.— *Proc. Soc. Exp. Biol.* 75: 3, 1950.
 - 18.— SUNDBERG I. A.— *Acta Endocrinol.* 5: 54, 1954.
 - 19.— SNEDECOR G. M.— *Statistical Methods.* Pag. 75, 4ta. Ed., The Iowa State College Press, Ames, Iowa, 1946.
 - 20.— HARRIS R. S. y COHEN S. L.— *Endocrinology* 48: 264, 1951.
 - 21.— LECOP R.— *C. R. Soc. Biol., París.* 143: 1320, 1949.
 - 22.— WISLOCKI G. B., DEZNE H. W. y DEMPSEY E. W.— *Am. J. Anat.* 78: 281, 1946.
 - 23.— MOSSMAN H. W.— *J. Anat.* 37: 433, 1950.
 - 24.— CHANG M. C.— *J. Exp. Zool.* 114: 197, 1950.
 - 25.— BLACK W. G., OTTO G. y CASIDA L. E.— *Endocrinology* 49: 237, 1951.
 - 26.— SAN MARTIN M.— Trabajo inédito.
-