

Efecto de la oxitocina y dihidroestilbestrol sobre el contenido uterino de diversos cationes

A. Orts, J. Vila, J. Esplugues* y A. Brugger*

Departamento de Farmacología
C.E.U. Alicante (Universidad de Valencia)
Alicante

(Recibido el 27 de mayo de 1975)

A. ORTS, J. VILA, J. ESPLUGUES and A. BRUGGER. *The Effect of Oxytocin and Dihydrostilbestrol on Various Uterine Cations*. Rev. esp. Fisiol., 32, 15-20. 1976.

The effect of dihydrostilbestrol diacetate and oxytocin on the Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺ content in uterine Wistar rats has been studied. A bilateral ovariectomy on the animals was performed. After seven days dihydrostilbestrol (0.25 mg/kg a day) and oxytocine (0.025 U.I./kg a day) were administered separately and simultaneously i.p. during a period of five days.

Twenty four hours after the first, third and fifth administration, five rats from each group were decapited and the above uterine cation content was determined by atomic absorption spectrometry.

Dihydrostilbestrol induced a marked increase and a slight decrease in K⁺ and Na⁺ contents respectively, lowering the Na/K ration. It also increased greatly Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺ content. Oxytocin induced a Na⁺ and K⁺ increase, a Ca⁺⁺ decrease, and slight changes in Mg⁺⁺. These results partially confirmed the bioelectric and biomechanic alterations produced by the above hormones on the uterine cells.

Es un hecho conocido desde antiguo y repetidamente confirmado el que la conducción del impulso en el miometrio sólo se da cuando éste se encuentra bajo el influjo estrogénico (14, 16, 19, 23).

La administración de estrógenos a ratas ovariectomizadas provoca: *a*) un aumento de la velocidad de conducción del impulso, que puede observarse a las dos horas y es máximo a las 72 horas de la administración i.m. de propionato de ciclopentil estradiol (23); *b*) una disminución en

la frecuencia de las contracciones uterinas y aumento en la amplitud de las mismas; al mismo tiempo que lo sensibiliza a la acción de la oxitocina (6, 23).

Si estos animales son tratados simultáneamente con estrógenos y progesterona, la contracción uterina es lenta e irregular, y los potenciales de acción varían de unas células a otras, apareciendo un bloqueo de la conducción del estímulo. En estas circunstancias la oxitocina no provoca despolarización de la membrana (6, 17, 21).

Todos estos cambios que aparecen tras la administración de estrógenos se acompañan de modificaciones en las propieda-

* Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina. Valencia-10

des bioeléctricas y biomecánicas de las células, haciéndose el potencial de reposo de éstas más electronegativo y aumentando entonces el potencial de excitación (22).

En el presente trabajo se ha estudiado la evolución del contenido de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y Mg^{++} en úteros de ratas previamente ovariectomizadas, bajo el influjo de diacetato de dihidroestilbestrol, oxitocina y ambos simultáneamente.

Material y métodos

Se han utilizado 50 ratas hembras vírgenes de raza Wistar con pesos comprendidos entre 200 y 250 g. A todas ellas se les practicó la ovariectomía bilateral bajo anestesia con éter y a los siete días de la intervención se sacrificaron cinco de ellas sirviendo de grupo control. Las restantes se dividieron en tres grupos de 15 ratas.

Grupo A. A partir del 8.º día de la ovariectomía, se les administró diariamente 0,25 mg/kg peso de diacetato de dihidroestilbestrol (Sinestrol) por v.i.p. Cinco de ellas fueron sacrificadas a las 24 horas de la primera administración; otras cinco al tercer día y las cinco restantes al quinto día; con lo cual el primer grupo recibió sólo una dosis, el segundo tres y el tercero cinco.

Grupo B. Se les administró por v.i.p. oxitocina (Pitocín) (0,0125 U.I./kg peso). La metódica seguida en la administración de este fármaco, número de dosis y demás, fue la misma que en el grupo A.

Grupo C. Se les administró por v.i.p. diacetato de dihidroestilbestrol (0,25 mg/kg peso) y oxitocina (0,0125 U.I./kg peso) simultáneamente. La metódica seguida en la administración del fármaco, número de dosis, etc., fue la misma que en el grupo A.

Todas las ratas fueron sacrificadas por decapitación a las 24 horas de la última administración de la hormona(s). Rápidamente se extrajeron los cuernos uterinos, que fueron lavados con agua desionizada

y pesados. Posteriormente se trataron con 4 ml de una mezcla de ClH y NO_2H_2 (1:1) y 6 ml de agua desionizada. Se calentaron hasta la ebullición y se mantuvo ésta durante 10 minutos, añadiendo el agua desionizada necesaria para compensar en parte la evaporación, de tal forma que el volumen quede reducido a 5 ml. Se completó hasta 10 ml con una solución de Cl_2La de 2.000 p.p.m. En esta muestra se midieron los iones Na^+ , K^+ , Ca^{++} y Mg^{++} según las técnicas de RAMÍREZ-MUÑOZ (28, 31) y SMITH y NESSEN (35).

El estudio estadístico de los resultados se realizó comparando los valores obtenidos tras la administración de la primera, tercera y quinta dosis con los valores control utilizándose el test de la «t» de Student.

Resultados

Grupo A. El sodio sufre un ligero descenso que no presenta validez estadística ($p > 0,05$). El potasio, por el contrario, sufre un aumento intenso y altamente significativo ($p < 0,005$). Tras la tercera dosis aumenta un 117,6 % sobre cifras control (tabla I). El cociente Na/K (tabla II) sufre una disminución intensa, que es también prácticamente máxima tras la tercera dosis, estabilizándose posteriormente.

Respecto a los valores obtenidos de los cationes Ca^{++} y Mg^{++} se observa un aumento de Ca^{++} proporcional a la dosis administrada ($p < 0,05$). Este incremento es máximo tras las tres primeras inyecciones, disminuyendo posteriormente. El Mg^{++} sufre un fuerte aumento a partir del segundo día, estadísticamente significativo en relación a las cifras control ($p < 0,005$) y que es máximo tras la quinta inyección del estrógeno (tabla I).

Grupo B. La oxitocina provoca un aumento en la concentración de Na^+ (tabla I) proporcional a las dosis administradas ($p < 0,05$), siendo máxima tras la quinta administración del polipéptido. El

Tabla I. Contenido de Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺ (mM/kg tejido) en condiciones control y al 1.º, 3.º y 5.º día de la administración (i.p.) de los distintos fármacos. Valores medios y desviaciones estándar.

Día	Dihidroestilbestrol (0,25 mg/kg)	Oxitocina (0,0125 u.i./kg)	Dihidroestilbestrol (0,25 mg/kg) + oxitocina (0,0125 u.i./kg)
Na ⁺			
Control	50,61 ± 1,67	50,61 ± 1,67	50,61 ± 1,67
1.º	52,47 ± 1,84	53,14 ± 1,46	53,63 ± 1,57
3.º	50,52 ± 0,85	54,71 ± 1,15	51,96 ± 0,96
5.º	48,92 ± 0,78	59,02 ± 1,92	51,25 ± 1,23
K ⁺			
Control	36,28 ± 2,50	36,28 ± 2,50	36,28 ± 2,50
1.º	50,62 ± 1,97	39,28 ± 2,41	48,49 ± 3,35
3.º	78,96 ± 2,65	43,97 ± 2,53	61,00 ± 3,08
5.º	79,56 ± 2,48	49,93 ± 2,82	65,62 ± 3,16
Ca ⁺⁺			
Control	1,98 ± 0,094	1,98 ± 0,094	1,98 ± 0,094
1.º	2,25 ± 0,121	1,87 ± 0,241	1,78 ± 0,187
3.º	3,15 ± 0,520	1,63 ± 0,308	1,95 ± 0,164
5.º	3,25 ± 0,565		
Mg ⁺⁺			
Control	4,92 ± 0,245	1,29 ± 0,287	2,21 ± 0,242
1.º	5,08 ± 0,129	4,92 ± 0,245	4,92 ± 0,245
3.º	6,59 ± 0,214	5,25 ± 0,135	4,60 ± 0,237
5.º	7,34 ± 0,207	5,17 ± 0,196	5,16 ± 0,209
		4,88 ± 0,221	4,97 ± 0,215

K⁺ sufre un incremento inicial tras la primera inyección sin validez estadística ($p > 0,05$). Inyecciones posteriores provocan aumentos más intensos de este catión ($p < 0,05$) alcanzando finalmente un aumento del 37,4 % con respecto a las cifras control. La relación Na/K (tabla II) disminuye ligera y progresivamente, pero sin validez estadística ($p > 0,05$).

Se aprecia una ligera disminución en las concentraciones de Ca⁺⁺ pasando de 1,98 mM/kg peso de tejido en condiciones control a 1,29 mM/kg peso de tejido al

quinto día (tabla I). El Mg⁺⁺ sufre un incremento inicial disminuyendo posteriormente ($p > 0,05$).

Grupo C. La administración simultánea del diacetato de dihidroestilbestrol y oxitocina provoca un aumento notable en las cifras de K⁺ (80,8 % tras la quinta inyección de ambas hormonas, con respecto a las cifras control) ($p < 0,05$) (tabla I). El sodio sufre ligeros incrementos que no guardan relación con el número de dosis administradas y sin validez estadística.

Tabla II. Cociente Na/K. Valores medios más desviación estándar.

Día	Dihidroestilbestrol	Oxitocina	Dihidroestilbestrol + oxitocina
Control	1,39 ± 0,084	1,39 ± 0,084	1,39 ± 0,084
1.º	1,03 ± 0,112	1,34 ± 0,116	1,10 ± 0,120
3.º	0,63 ± 0,126	1,24 ± 0,208	0,85 ± 0,165
5.º	0,61 ± 0,124	1,18 ± 0,221	0,78 ± 0,123

ca ($p > 0,05$). El cociente Na/K (tabla II) sufre una disminución progresiva que es máxima tras la quinta administración (44,1% menor que las cifras control, $p < 0,05$).

Las variaciones encontradas en las concentraciones de Ca^{++} y Mg^{++} son ligeras y no presentan validez estadística ($p > 0,05$).

Discusión

Los estrógenos aumentan el tamaño y peso de los úteros tanto en hembras maduras como en impúberes y/o ovariectomizadas. Dicho aumento es consecuencia del incremento de la síntesis proteica (3, 7, 8, 17, 25, 33) y de alteraciones en la permeabilidad del tejido uterino que se traducen por la salida de agua, iones y proteínas del plasma al tejido perivascular uterino (1, 13, 27, 34).

Estos cambios se acompañan de modificaciones en las propiedades bioeléctricas y biomecánicas de las células (20, 22). En estos trabajos se ha demostrado que el potencial de reposo en las células uterinas de ratas castradas era de -35 mV, que la administración conjunta de estrógenos y progesterona le hace pasar a -64 mV, y que la administración de estradiol a altas dosis lo elevaba a -75 mV.

Estos hallazgos explican los resultados obtenidos en el presente trabajo. La administración de diacetato de dihidroestilbestrol no provoca modificaciones significativas en la concentración de Na^+ mientras que el K^+ aumenta de forma llamativa. En este sentido cabe resaltar el importante papel de la bomba de sodio en el mantenimiento del potencial de reposo en el músculo liso en general y en el uterino en particular (4, 36). Para algunos autores (18, 37) el papel de la bomba de sodio es tan primordial que es el responsable de mantener una diferencia de potencial en reposo de -57 mV.

Lógicamente el cociente Na/K disminuye ostensiblemente debido a las varia-

ciones de las concentraciones de Na^+ y K^+ anteriormente mencionadas.

Las modificaciones del Na^+ y K^+ provocadas por el dihidroestilbestrol son del mismo orden que las encontradas por KAO (16). Sin embargo, difieren en cuanto al Na^+ de las halladas por KALMAN (15), quien ha observado que la administración de etinil-estradiol a ratas previamente ovariectomizadas provoca un aumento de la concentración intracelular tanto de Na^+ como de K^+ .

La oxitocina no ha provocado cambios cualitativamente distintos sobre las concentraciones de Na^+ y K^+ que lo hiciera el estrógeno. El Na^+ aumenta claramente, aunque tampoco de forma intensa; también aumenta el K^+ , aunque sin validez estadística. Como resultado la reducción del cociente Na/K — sin validez estadística — no es tan acusada como bajo el influjo estrogénico.

Todo ello parece estar de acuerdo con los resultados obtenidos por MARSHALL *et al.* (19-22), para quien la oxitocina, a pequeñas dosis, provocaría la contracción del músculo uterino por una leve pero definitiva despolarización de la membrana celular, y a dosis altas provocaría una despolarización profunda de la membrana, y señaló que su acción se asemeja a la de otros estimulantes del miometrio como la ACh, histamina y 5-HT.

La administración simultánea de dihidroestilbestrol y oxitocina provoca un ligero aumento del Na^+ no significativo y un aumento intenso de K^+ , de tal forma que la relación Na/K disminuye, discutiendo paralela a la provocada por el dihidroestilbestrol.

A la vista de lo anteriormente expuesto parece claro que el dihidroestilbestrol modifica ostensiblemente la relación Na/K que podría explicar las modificaciones del potencial de membrana que se dan en las células del miometrio bajo el influjo estrogénico. La oxitocina, por el contrario, no altera significativamente dicho cociente; ello es lógico si se tiene en cuenta que su

mecanismo de acción no parece estar directamente relacionado con la situación bioeléctrica de la membrana. En este sentido MARSHALL (20) ha indicado que la acción de la oxitocina no es la despolarización o repolarización de las células miométriales, sino la de poner al útero en la situación ideal para su actividad.

El dihidroestilbestrol provoca un aumento del contenido uterino de Ca^{++} ; por el contrario, la oxitocina lo disminuye ligeramente, y la administración simultánea de ambos no modifica significativamente la concentración de Ca^{++} uterino.

Los estrógenos provocan un espaciamiento entre las contracciones espontáneas, al mismo tiempo que aumentan la amplitud de las mismas. Por otra parte, el Ca^{++} es necesario para la contracción muscular. Son numerosos los estudios realizados que sugieren, además, que los iones de Ca^{++} son el nexo de unión entre los fenómenos bioeléctricos y biomecánicos (5, 11, 32). Teniendo en cuenta estos hechos es lógico el aumento de este catión en el útero por los estrógenos.

Los miometrios con un contenido pobre en Ca^{++} , bien por exposición prolongada en líquidos nutricios sin este catión, bien porque han sido previamente tratados con EDTA muestran una disminución de la contractilidad (9), una despolarización de la membrana de sus células e inexcitabilidad (10). Aunque el Ca^{++} tiene un papel importante en los fenómenos de membrana, su función fundamental está centrada en la contracción muscular. De tal forma que se ha demostrado que es esencial para la contracción inducida por drogas incluso en músculos uterinos despolarizados (21).

Por otra parte, el hecho de que el Ca^{++} posea un papel en los fenómenos bioeléctricos de la membrana, hace que este catión esté relacionado con el mecanismo de acción de la oxitocina. La disminución del potencial de membrana y la relajación muscular que aparece en los úteros que bajo influjo estrogénico se les ha provoca-

do una privación de Ca^{++} , hizo pensar que la oxitocina actuaría liberando Ca^{++} de la membrana celular (2, 12). Todo lo cual explicaría las diferentes respuestas de los úteros según se encuentren bajo el influjo de los estrógenos o de la progesterona, ya que esta última se uniría al Ca^{++} más fuertemente que los estrógenos (26). MARSHALL (19) sugiere que actúa por movilización del Ca^{++} fundamentalmente, aunque también pudieran estar implicados otros iones. La reducción del contenido del Ca^{++} en los úteros tratados con oxitocina solamente, en animales que no se encuentran bajo influjo estrogénico, parece corroborar lo anteriormente indicado.

El tratamiento con dihidroestilbestrol de ratas previamente ovariectomizadas aumenta el contenido de Mg^{++} de sus úteros resultados que confirman los hallazgos previos de WALAAS (39). Este aumento del contenido de Mg^{++} , que llega a ser de un 49 % con respecto al control, no parece, sin embargo, que tenga relación con el aumento de peso del útero (9, 24).

Sin embargo, la administración de oxitocina y de oxitocina más dihidroestilbestrol simultáneamente no ha provocado cambios estadísticamente significativos en el presente estudio.

Tanto el contenido como la distribución y movimientos del Mg^{++} no dependen de la ATPasa de la membrana, ni del gradiente de sodio, como lo demuestra el hecho de que estos parámetros no sean afectados por inhibición de la ATPasa con ouabaína (9), lo cual induce a pensar que su contenido no está — en principio — directamente relacionado con la situación bioeléctrica (38). Las modificaciones observadas en la concentración de Mg^{++} tras la administración de estrógenos podrían en parte ser debidas a la íntima relación existente entre el metabolismo del Mg^{++} y del Ca^{++} . MOAWAD (24) ha demostrado cómo la inhibición del metabolismo celular con 2-4 DNP provoca una disminución en la porción no intercambiable de Mg celular, el cual puede ser intercambiado por Ca^{++} .

Resumen

Se ha estudiado el efecto del diacetato de dihidroestilbestrol y oxitocina sobre el contenido uterino de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y Mg^{++} en ratas Wistar. Los animales sufrieron una ovariectomía bilateral y a los 7 días de la misma se les administró por v.i.p. dihidroestilbestrol (25 mg/kg peso y día), oxitocina (0,025 U.I./kg y día) y dihidroestilbestrol y oxitocina simultáneamente a las mismas dosis señaladas.

A las 24 horas de la 1.^a, 2.^a y 5.^a inyección se sacrificaron cinco ratas de cada grupo por decapitación, determinando en sus úteros por absorción atómica los cationes.

El dihidroestilbestrol provoca un aumento intenso en el contenido de K^+ , que unido a una disminución discreta del Na^+ , da lugar a que la relación Na/K se reduzca considerablemente. El Ca^{++} y Mg^{++} sufren fuertes incrementos. La oxitocina da lugar a un aumento del Na^+ y K^+ y disminución del Ca^{++} ; el Mg^{++} es modificado de forma no significativa. Los resultados confirman parcialmente las alteraciones bioeléctricas y biomecánicas que se dan en el miometrio bajo el efecto de estas hormonas.

Bibliografía

1. BARNEA, A.: *Endocrinology*, **84**, 746, 1969.
2. BERGER, E. y MARSHALL, J. M.: *Amer. J. Physiol.*, **201**, 931, 1961.
3. BRENNER, S., JACOB, F. y MESELSOHN, M.: *Nature*, **190**, 576, 1961.
4. BULBRING, E.: *Physiol. Rev.*, **42**, 160, suppl. 5, 1962.
5. COSMOS, E.: *Amer. J. Physiol.*, **195**, 705, 1958.
6. CSAPO, A. I.: *Physiol. Rev.*, **42**, 7, suppl. 5, 1962.
7. CSAPO, A. I. y TAKEDA, H.: *Nature*, **200**, 680, 1963.
8. CSAPO, A. I., ERDOS, T., MATTOS, C. E. R., GRAMSS, E. y MOSCOWITZ, C.: *Nature*, **207**, 1378, 1965.
9. DANIEL, E. E.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **42**, 453, 1964.
10. DANIEL, E. E., SEHDEV, H. y ROBINSON, K.: *Physiol. Rev.*, **42**, 228, suppl. 5, 1962.
11. FRANK, G. B.: *Nature*, **182**, 1800, 1959.
12. GOTO, M. y CSAPO, A.: *J. gen. Physiol.*, **43**, 455, 1960.
13. HAM, K. N., HURLEY, J. V., LOPATA, A. y RYAN, G. E.: *J. Endocrinol.*, **46**, 71, 1971.
14. JUNG, M.: *Arch. ges. Physiol.*, **263**, 427, 1956.
15. KALMAN, S. M.: *J. Pharmacol. exp. Therap.*, **121**, 252, 1957.
16. KAO, C. Y.: *Amer. J. Physiol.*, **201**, 717, 1961.
17. KELLIE, A. E.: *Ann. Rev. Pharmacol.*, **119**, 97, 1971.
18. KURIYAMA, H., OHSHIMA, K. y SAKAMOTO, Y.: *J. Physiol.*, **217**, 179, 1971.
19. MARSHALL, J. M.: *Amer. J. Physiol.*, **197**, 935, 1959.
20. MARSHALL, J. M.: *Physiol. Rev.*, **42**, 213, suppl. 5, 1962.
21. MARSHALL, J. M.: *Amer. J. Physiol.*, **204**, 732, 1963.
22. MARSHALL, J. M. y O'BRIEN, D. P.: *Endocrinology*, **80**, 748, 1967.
23. MELTON, M. E.: *Inter. Congr. Physiol. Sci. 22nd*, Leiden, 1962, p. 532.
24. MOAWAD, A. M. y DANIEL, E. E.: *Amer. J. Physiol.*, **220**, 75, 1971.
25. MORICARD, R.: «Mechanismes d'action intracelulaires des hormones». Ed. Masson. París, 1970, pp. 37-52.
26. MUNSICK, R. A.: En «Handbook of experimental Pharmacology». Vol. XXIII, página 443. Springer-Verlag. Berlín, 1968.
27. PREEDY, J. R. K. y AITKEN, E. H.: *J. Clin. Invest.*, **35**, 423, 1956.
28. RAMÍREZ-MUÑOZ, J. y ROTH, M. E.: *Flame Notes*, **4**, 2, 1969.
29. RAMÍREZ-MUÑOZ, J. y ROTH, M. E.: *Flame Notes*, **5**, 26, 1970.
30. RAMÍREZ-MUÑOZ, J. y ROTH, M. E.: *Flame Notes*, **5**, 16, 1970.
31. RAMÍREZ-MUÑOZ, J. y ROTH, M. E.: *Flame Notes*, **5**, 1, 1970.
32. ROBERTSON, P. A.: *Nature*, **186**, 316, 1960.
33. ROTH, L. J.: En «Handbook of experimental Pharmacology». Vol. XXVIII, p. 241. Springer-Verlag. Berlín, 1971.
34. RINGLER, I.: *Endocrinology*, **68**, 281, 1961.
35. SMITH, R. V. y NESSEN, M. A.: *J. Pharm. Sci.*, **60**, 907, 1971.
36. THOMAS, R. G.: *Physiol. Rev.*, **52**, 563, 1972.
37. TOMITA, T. y YAMAMOTO, T.: *J. Physiol.*, Londres, **212**, 851, 1971.
38. WACKER, W. E. C.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **162**, 717, 1969.
39. WALAAS, O.: *Acad. Physiol. Scand.*, **21**, 27, 1950.