

INTERACCION IN VITRO ENTRE OXITOCINA Y PROSTAGLANDINA F₂ ALFA EN UTERO DE VACA EN FASE LUTEINICA

Interaction in vitro of Oxytocin and Prostaglandin F₂ α
in cow's uterus in the luteal phase

Elida Lubo Acosta

José Manuel Sanz Diego

Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad del Zulia
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

Palabras claves: Vaca, Oxitocina, Prostaglandina F₂ α, miometrio, fase luteínica

Key words: Cow, Oxytocin, Prostaglandin F₂ α, uterus, luteal phase

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue investigar la interacción "in vitro" de la Oxitocina (Ox) y Prostaglandina F₂ α (PGF₂ α) (Trometamina) en tejido miometrial de los cuernos uterinos de la vaca en fase luteínica. Fueron tomadas muestras de los tercios tubáricos, medios y posteriores de ambos cuernos e incubadas en baño de órgano aislado con Ox y PGF₂ α midiéndose la tensión desarrollada en gramos producida por dosis efectivas de Ox (0.003 U.I.) cuando la incubación era en PGF y de PGF₂ α (0.3 μg) cuando la incubación era en Ox. No hay diferencias significativas (P > 0.05) de respuesta del miometrio al estímulo de la Ox antes y después de la incubación en PGF₂ α. Sí se encontraron diferencias significativas (P < 0.001) de respuesta a la PGF₂ α antes y después de la incubación en Ox, manifestándose como inhibición del tejido superior al 50% en todos los tercios de los cuernos uterinos. Se interpretan estos resultados como un antagonismo parcial de la Ox al actuar sobre los receptores prostaglandínicos del miometrio en esta especie, que modificarían esquemas de interacción entre Ox y PGF₂ α anteriormente propuestos. Estos resultados se repitieron en todas las muestras del tejido, por lo que se descartan efectos localizados sobre los distintos tercios en los cuernos uterinos de la vaca.

ABSTRACT

The purpose of this research was based on observations of the interaction "in vitro" of Oxytocin (Ox) and Prostaglandin (PGF₂ α) in tissue of cow's uterine horns in the luteal phase. Samples were taken from utero tissue-tubal, medium and posterior parts - of both horns, and incubated in organ bath isolated with Ox and PGF₂ α, measuring tension developed, in grams produced by effective Oxytocin doses (0.003 U.I.) when incubation was

in PGF₂ α and also with PFG₂ α when incubated in Ox. No significative differences (P > 0.05) were seen in uterine tissue in response to Ox stimulation before and after incubation in PGF₂ α. Significative differences (P < 0.001) in response to PGF₂ α stimulation, before and after incubation, seen as inhibition of the upper tissue (50%) in uterine horns. These results are seen as a partial antagonism to Prostaglandine receptors of the uterus in this specie, wich would modify previous patterns of interaction between tissue, which discards site effects upon the different parts of the cow's uterine horns.

INTRODUCCION

Está reportado que la Oxitocina (Ox) produce contracciones miometriales en el ciclo de la vaca, mujer, rata, coneja, yegua^[4, 9], y que las prostaglandinas (PGF₂ α) también originan efectos útero-cinéticos en el ciclo de la coneja, rata, oveja y vaca^[8, 9]. Sharpe y col.^[20], refieren que la PGF₂ α no tiene efectos útero-cinéticos en el ciclo de la yegua.

Por otro lado Spilman y Harper^[23] y Eiler y col.^[9] reportan que en el ciclo de la vaca y coneja el miometrio desarrolla en sesenta minutos insensibilidad a la Ox y PGF₂ α cuando ambos se suministran repetidamente, no conociéndose el mecanismo de esta insensibilidad.

Trabajando "in vitro", en útero de vaca, Eiler y col.^[10] encuentran que un análogo de la PGF₂ α (Fenprostalene) tiene efectos útero-cinéticos en presencia de la Ox y un efecto similar de la Ox ante el análogo de PGF₂ α en el baño.

Está plenamente aceptada por los autores la estrecha relación fisiológica que hay entre la Ox y PGF₂ α en la determinación de la vida media del cuerpo lúteo del ciclo. En la actualidad se reportan muchos trabajos con resultados contrapuestos, respecto a la producción de PGF₂ α en el ciclo de las hembras, siempre relacionando este

aspecto con el papel que cumpliría la Ox de origen luteal.

Se ha comprobado que en la rata^[6] la Ox liberada por el cuerpo lúteo sería un factor de producción de PGF₂^α circulante. Algo similar reportan Raw y Silvia^[18] y Vallet y col.^[24] en la oveja y Cook y Homeida^[7] en la cabra; sin embargo en el caso de la vaca los trabajos recientes de Gilbert y col. y Howard y col.^[12, 15], indican que la Ox disminuye los flujos de PGF₂^α en la fase luteínica. Chan y col.^[6] y Chan^[6] plantean que la Ox., además de promover la producción de PGF₂^α en el útero de rata, tiene un efecto directo sobre el miometrio, proponiendo como mecanismo de acción para ambas sustancias, receptores diferentes y separados al actuar sobre el órgano. Algo similar postulan otros autores^[19, 21, 1, 2, 11]. Todos ellos asocian los efectos útero-tónicos de la Ox con el número y sensibilidad de los receptores oxitócicos durante la fase luteínica y la relación que esto tiene con la producción de PGF₂^α por el útero.

El propósito de este trabajo es investigar la interacción "in vitro" de la oxitocina y prostaglandina F₂^α en el tejido miometrial de los cuernos uterinos de vaca en fase luteínica.

MATERIALES Y METODOS

En los experimentos realizados, se utilizaron úteros en fase luteínica de 48 vacas mestizas, productos de cruces alternos e indefinidos entre razas lecheras y criollas, las cuales fueron sacrificadas en el Frigorífico Industrial Bolívar del Estado Zulia. Las muestras se obtuvieron en el momento de la evisceración y fueron depositadas en envases de vidrio conteniendo solución nutritiva a temperatura ambiente. Esta solución nutritiva (Krebs Henseleit) tiene la composición siguiente: NaCl₂ 0.373 g.; KCl 0.53 g.; MgSO₄ 0.290 g.; KH₂PO₄ 0.160 g.; NaHCO₃ 2.089 g.; y glucosa 0.999 g., para un litro de solución. Los úteros se trasladaron al laboratorio preparándose muestras de miometrio tomadas tanto del cuerno ipsilateral como del contralateral. Estas muestras, de 4 cm de largo por 0.5 cm de ancho aproximadamente, fueron tomadas e identificadas de los tercios tubáricos como A y F, de los tercios medios como B y E y de los tercios posteriores de los cuernos como C y D, tal como se muestra en la Fig. 1. Se sigue este diseño experimental por tercios uterinos dados los resultados obtenidos con Ox y PGF₂^α en anteriores trabajos.

Todas las muestras fueron homogenizadas en un peso promedio de 1.7 ± 0.017 y montadas en baterías de baño para órgano aislado a 37°C en constante burbujeo con la solución nutritiva. La preparación se estabilizó por medio de tres lavados consecutivos cada diez minutos por tres veces, incubándose las muestras por 15 minutos en Ox o PGF₂^α conectadas por medio de un hilo inestensible a un transductor de fuerza desplazamiento FT-03C, que funciona como un polígrafo Grass Modelo 7DAF. Se midió la

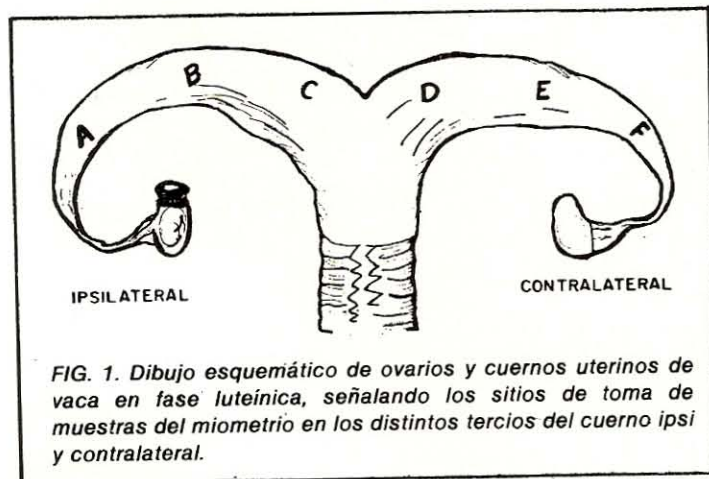


FIG. 1. Dibujo esquemático de ovarios y cuernos uterinos de vaca en fase luteínica, señalando los sitios de toma de muestras del miometrio en los distintos tercios del cuerno ipsi y contralateral.

tensión isométrica a una sensibilidad de 3 mm por gramo de fuerza desarrollada y una velocidad de 2.5 mm por minuto en el registro.

La secuencia experimental sobre las tres secciones del miometrio fue la siguiente:

- 1 Prueba de efectos máximos del miometrio con Ox*.
- 2 Prueba de efectos máximos del miometrio con PGF₂^α (Trometamina Dinoprost) Lutalyse**.
- 3 Efectos de la dosis máxima de Ox (0.003 U.I./ml. de baño) sobre las muestras del miometrio después de quince minutos de incubación en 0.3 μg/ml de PGF₂^α.
- 4 Efectos de la dosis máxima de PGF₂^α (0.3 μg/ml baño) sobre las muestras miometrio después de quince minutos de incubación en U.I./ml. de oxitocina

El análisis estadístico se hizo en base a la aplicación individual y sencilla de la prueba "t" de student en los distintos tercios con y sin incubación.

RESULTADOS

Los resultados presentados en la Fig. 2, corresponden a dos series de registros de los distintos tercios en los cuerpos ipsi y contralateral de vaca en fase luteínica. La serie I con Ox, antes y después de la incubación en PGF₂^α y la serie II con PGF₂^α antes y después de la incubación en Ox. Estos registros ponen en evidencia las distintas características de respuesta de los tercios uterinos cuando la incubación es con PGF₂^α o con Ox.

Las Tablas I y II muestran los valores obtenidos de los distintos tercios uterinos antes y después de la incubación con PGF₂^α y Ox. En el primer caso (Tabla I) no hay diferencias estadísticamente significativas (P > 0.05) por la incubación. En el segundo caso (Tabla II) sí hay diferencias estadísticamente significativas (P < 0.01) por incubación.

El gráfico 1 de la Fig. 3 muestra los valores promedio de sensibilidad de los tercios uterinos de los cuernos ipsi y contralateral, incubados en PGF₂^α y el gráfico 2 la sensibilidad incubados con Ox. Es evidente en este último gráfico una inhibición superior al 50% de la PGF₂^α en

* Syntocinon, Sandoz, Basilea, Suiza.

** Lutalyse, Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan, E.U.A.

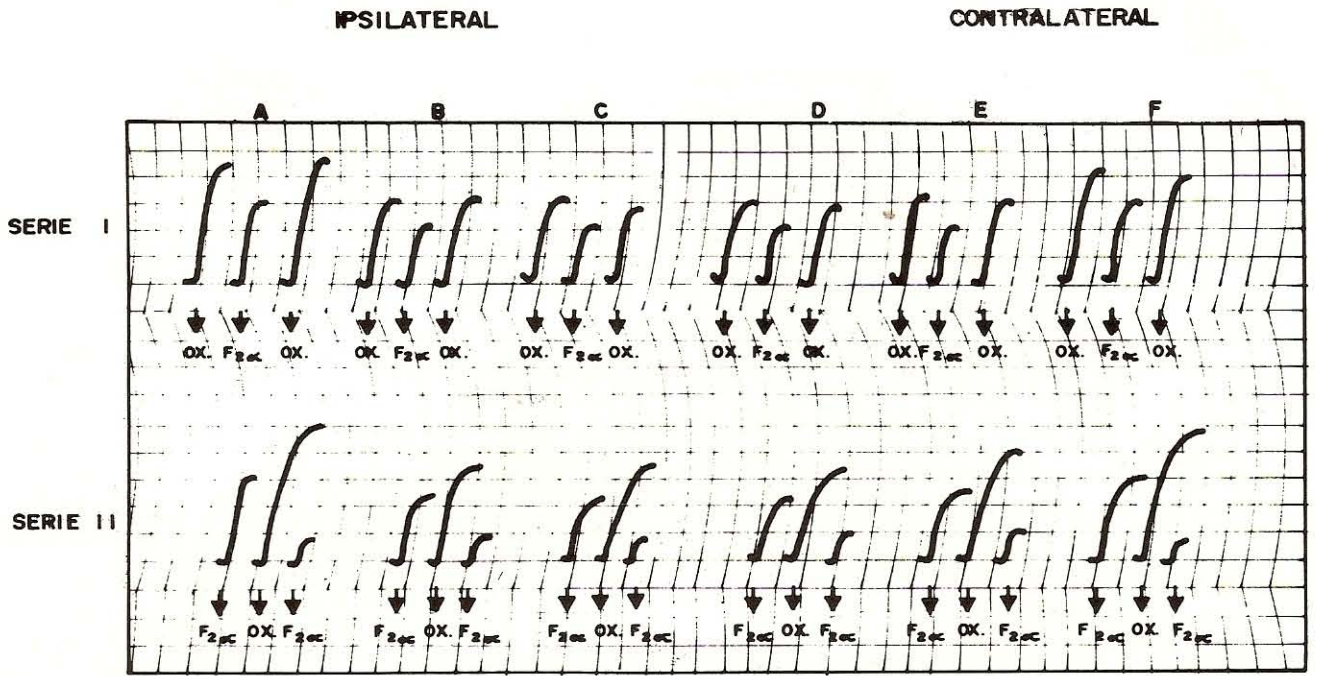


FIG. 2. Registros "in vitro" de la tensión isométrica en tiras de los cuernos del útero de vaca en fase lútea. En la Serie I, la dosis de oxitocina (Ox) fue de 0.003 U.I./ml. de baño y la incubación en prostaglandina F₂ Alfa (F₂^α) de 0.3 U.I./ml. de baño. En la Serie II la dosis de F₂ fue de 0.3 U.I./ml. de baño y la incubación en Ox de 0.003 U.I./ml. de baño. Sensibilidad 3 milímetros por gramo. Velocidad de registro: 2.5 milímetros por minuto.

todos los tercios uterinos, siendo de mayor magnitud en los tubáricos (A y F).

DISCUSION

En este trabajo se ha medido por separado la sensibilidad del miometrio de vaca en fase lútea a Ox y PGF₂^α, así como también el efecto de cada una de ellas en el órgano "in vitro" en presencia de la otra. Los resultados indican que la PGF₂^α en el baño no afecta la sensibilidad del miometrio a Ox, sin embargo, la Ox sí modifica la sensibilidad de este órgano a PGF₂^α.

El distinto comportamiento de estas dos drogas uterótónicas pudiera entenderse en base al planteamiento de que actuarían sobre receptores diferentes en esta especie, tal como lo propone Chan y col.^[5] y Chan, W. Y.^[6] para el miometrio de la rata. El esquema propuesto por los autores mencionados podría ser modificado para la vaca en base a estos resultados, Fig. 4, indicándose que la Ox no sólo actuaría sobre su propio receptor oxitócico como agonista, sino también como antagonista parcial sobre el receptor prostaglandínico, inhibiendo los efectos de la PGF₂^α sobre el miometrio. Esta inhibición no se dio cuando la Ox se puso en contacto con el órgano en presencia de la PGF₂^α.

Fundamentalmente este planteamiento a nivel de receptores, nos permitiría entender el papel fisiológico de

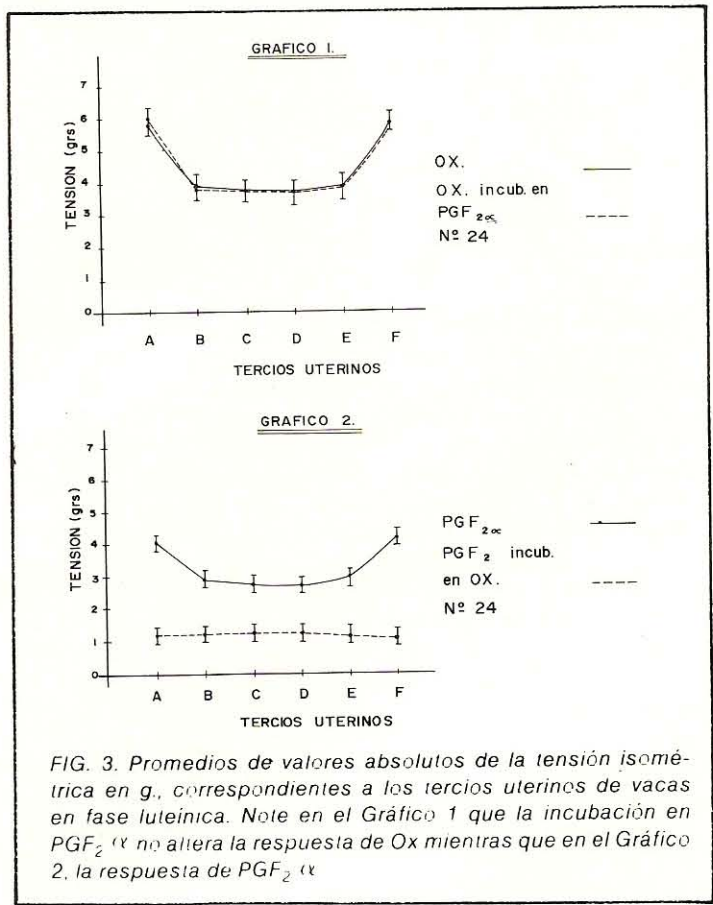


FIG. 3. Promedios de valores absolutos de la tensión isométrica en g., correspondientes a los tercios uterinos de vacas en fase lútea. Note en el Gráfico 1 que la incubación en PGF₂^α no altera la respuesta de Ox mientras que en el Gráfico 2, la respuesta de PGF₂^α

TABLA I

PROMEDIOS, DESVIACION Y ERROR A LA MEDIA DE LA TENSION EN GRAMOS DE LOS TERCIOS CORRESPONDIENTES A LOS CUERNOS UTERINOS, EN PRESENCIA DE OX E INCUBADOS CON PGF₂ α

		A	B	C	D	E	F
Ox	\bar{X}	5.91	3.94	3.77	3.71	3.91	5.88
	S	2.24	1.70	1.19	1.22	1.08	1.77
	Es	0.64	0.49	0.34	0.35	0.31	0.51
Ox incubados en PGF ₂ α.	\bar{X}	6.05	3.85	3.71	3.74	3.88	5.63
	S	1.30	0.78	0.82	1.60	1.67	0.93
	Es	0.37	0.22	0.23	0.46	0.48	0.27

TABLA II

PROMEDIOS, DESVIACION Y ERROR A LA MEDIA DE LA TENSION EN GRAMOS DE LOS TERCIOS CORRESPONDIENTES A LOS CUERNOS UTERINOS, EN PRESENCIA DE PGF₂ α E INCUBADOS EN OX

		A	B	C	D	E	F
PGF ₂ α	\bar{X}	4.13 **	2.99 **	2.71 **	2.26 **	2.94 **	4.10 **
	S	0.65	0.88	0.58	0.53	0.54	0.83
	Es	0.19	0.25	0.16	0.15	0.15	0.24
PGF ₂ α incubados en Ox	\bar{X}	1.21 **	1.24 **	1.27 **	1.30	1.24	1.16
	S	0.62	0.53	0.67	0.82	0.69	0.70
	Es	0.18	0.15	0.19	0.23	0.20	0.20

** P < 0.01

la oxitocina de origen luteal en el ciclo de la vaca, como un regulador de la motilidad uterina producida por la PGF₂ α. El trabajo de Howard y col.^[15], reporta que la presencia y liberación de oxitocina previamente acumulada en el cuerpo lúteo al final de la fase luteínica, disminuiría los flujos de PGF₂ α, extendiendo la función luteal y el ciclo estral. A la misma conclusión llegan Gilbert y col.^[12] cuando infunden en forma continua oxitocina después del décimo día del ciclo en novillas.

Nuestros resultados "in vitro" podrían complementar lo encontrado por estos autores agregando al esquema de Chan una inhibición directa de la oxitocina sobre los receptores de las prostaglandinas y en consecuencia disminuyendo la sensibilidad del miometrio a esta sustancia. No obstante hay evidencias en la oveja de que la PGF₂ α de origen uterino es necesario que incremente sus niveles para que pueda ser liberada la oxitocina del cuerpo lúteo^[17]. La involución del cuerpo lúteo propiciada por la PGF₂ α exógena o endógena, haría caer los niveles de oxitocina circulante de origen luteal; por lo tanto no

interferiría sobre los receptores de la PGF₂ α del miometrio; aumentándose así la motilidad que se manifiesta en el preestro en esta especie. Se suman a esto algunos factores endocrinos, como los incrementos en el nivel de estrógeno y la caída previa de la progesterona señalados por Gilbert y col.^[12], que alterarían la sensibilidad y el número de receptores oxitócicos, como sugiere Soloff, M.S. y Fields, M.J.^[22] en esta especie.

Este trabajo también evidencia que, con las drogas usadas, el comportamiento de los cuernos útero ipsi y contralateral y los distintos tercios que lo forman, sería totalmente similar en cuanto a sensibilidad, tal como fue reportado por Lubo, E. y Sanz, J.M.^[16]. Se descartan en esta especie efectos localizados del sistema arteriovenoso útero ovárico del cuerpo lúteo, como sostienen los trabajos de Hansel y col.^[14]; Ginter^[13], y Baird^[3] para la oveja.

Se concluye que la oxitocina interferiría con el efecto útero-cinético de la prostaglandina F₂ α, por medio de un posible antagonismo parcial, sobre receptores prosta-

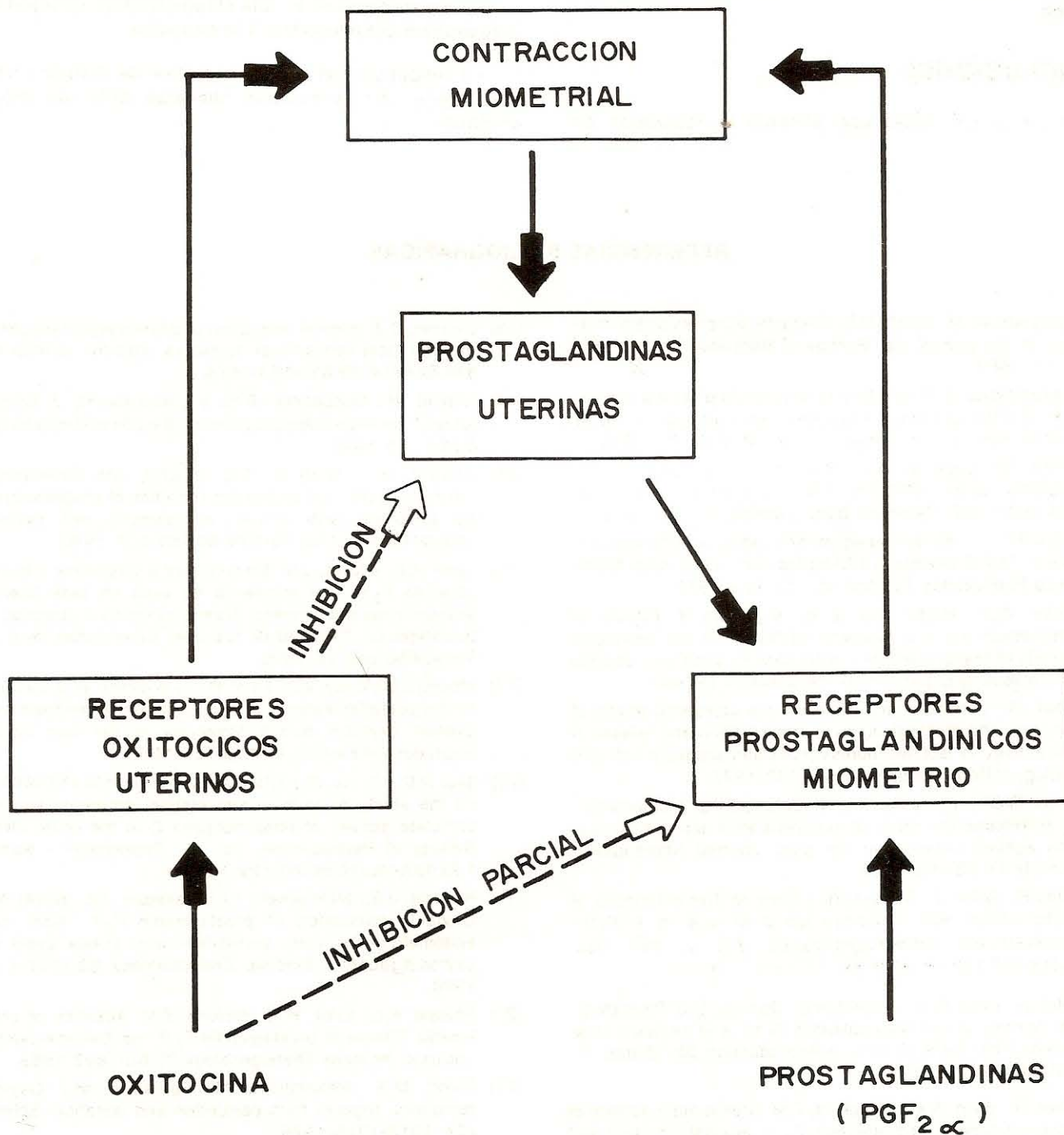


FIG. 4. Esquema que explicaría la interacción de la Oxitocina y Prostaglandina ($PGF_2 \alpha$) en útero aislado de vaca en fase luteínica. Modificación al esquema de Chan en útero aislado de rata.

glandínicos. El caso inverso no produjo alteración de la respuesta de la oxitocina, siendo estos comportamientos similares en los dos cuernos uterinos de la vaca en fase luteínica.

CONCLUSIONES

La oxitocina inhibe parcialmente la respuesta del

miometrio de vaca en fase luteínica a la Prostaglandina F₂ alfa, en magnitudes superiores a un cincuenta por ciento.

La Prostaglandina F₂ alfa (Trometamina) no interfiere la respuesta del miometrio a la oxitocina.

La respuesta del tejido miometrial de distintos sitios del órgano, dio respuestas similares ante las drogas probadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Alexandrova, M., Soloff, M.S. Oxytocin receptors and parturition in the guinea pig. *Biology of Reproduction* 22:1106-1111. 1980a.
- [2] Alexandrova, M., Soloff, M.S. Oxytocin receptors and parturition. Control of oxytocin receptor concentration in the rat myometrium at term. *Endocrinology* 106:730-735. 1980b.
- [3] Baird, D.I. Local utero-ovarian relationship in control of ovulation. pp 217-236. Eds. D.B. Crighton N.B. Haynes, G.R. Foxcroft y G.E. Samming. *Buttersworths, London*. 1978.
- [4] Boyd, I.E. The active management of labour in: Chamberlain, G.V.P., (ed) *Contemporary Obstetrics and Gynecology*. Northwood Publications. London, pp. 157-163. 1977.
- [5] Chan, W.Y., Hruby, V.J. y du Vigneaud V. Effects of magnesium ion and oxytocin inhibitors on the uterotonic activity of oxytocin and prostaglandins E₂ and F₂ α. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 1974b.
- [6] Chan, W.Y. Relationship between the uterotonic action of oxytocin and prostaglandins: oxytocin action and release of PG-activity in isolated nonpregnant and pregnant rat uteri *Biology of Reproduction*, 17:541-548. 1977.
- [7] Cook, R.G. y Homeida, A.M. Suppression of prostaglandin F₂ α release and delay of luteolysis after active immunization against oxytocin in the goat. *Journal Reproduction Fertility*. 75:63-68. 1985.
- [8] Eiler, H.; Oden, J.; Schaub, R. y Sims, M. Refractoriness of both uterus and mammary gland of cow to PGF₂ α administration: clinical implication. *Am. J. Vet. Res.* 4:314:317.1981.
- [9] Eiler, H., Lyke, W.A. y Armstrong - Backus, C.S. Physiological testing of the prostaglandin F₂ α and oxytocin dual receptor hypothesis. *Biology of Reproduction*, 32: (Suppl. 1); 131, abstract. 1985.
- [10] Eiler, H.; Byrd, W.H. y Hopkins, F.M. Uterokinetic activity of fenprostalene (A prostaglandin F₂ α analog) "in vivo" and "in vitro" in the bovine. *Theriogenology* 32:755-765. 1989.
- [11] Fuchs, A.R.; Periyasami, S.; Alexandrova, M.; Soloff, M.S. Correlation between oxytocin receptor concentration and responsiveness to oxytocin in pregnant rat myometrium. Effects of ovarian steroids. *Endocrinology* 113:742-749. 1983.
- [12] Gilbert, C.L.; Lamming, G.E.; Parkinson, T.J.; Flint, A.P.F. y Wathes D.C. Oxytocin infusion from day 10 after oestrus extends the luteal phase in non-pregnant cattle. *Journal Reproduction Fertility*. 86:203-210. 1989.
- [13] Ginther, O.J. Internal regulation of physiological processes through local venoarterial pathways. *Review Journal Animal. Science*. 39:550-564-1974.
- [14] Hansel, W.; Concannon, P.W. y Lukaszewska, J. Corpora lutea of the large domestic animals. *Biology of Reproduction*. 8:222-245. 1973.
- [15] Howard, H.J.; Morbeck, D.E. y Britt, J.H. Extension of oestrous cycles and prolonged secretion of progesterone in non-pregnant cattle infused continuously with oxytocin. *Journal Reproduction Fertility*. 90:493-502. 1990.
- [16] Lubo, A.E. y Sanz, J.M. Sensibilidad a Oxitocina y Prostaglandina F₂ α del miometrio de vaca en fase luteínica antagonizada por fenoterol. *Memorias de las II Jornadas de Investigación. Facultad de Ciencias Veterinarias de L.U.Z. Maracaibo*, pág: 25. 1990.
- [17] Moore, L.G.; Choy, V.J.; Elliot, R.L. y Watkins, W.B. Evidence for the pulsatile release of PGF₂ α inducing the release of ovarian oxytocin during luteolysis in the ewe *Journal Reproduction Fertility*. 76:159-166. 1986.
- [18] Raw, R.E. y Silvia, W.J. Effects of progesterone and estradiol on the ability of oxytocin and platelet activating factor to stimulate activity of phospholipase C in the ovine uterus. *Biology of Reproduction*. Vol. 40. Supplement - Number 1. 22nd Annual Meeting: 129. 1989.
- [19] Roberts, J.S.; Mckracken, J.A.; Gavagan, J.E.; Soloff, M.S. Oxytocin stimulated of prostaglandin F₂ α from ovine endometrium in vitro: correlation with estrous cycle and oxytocin-receptor binding. *Endocrinology* 99:1107-1114. 1976.
- [20] Sharpe, K.L.; Eiler, H. y Hopkins, F.M. Absence of uterokinetic. Effects of prostaglandin F₂ α on Oxytocin-reactive uterus in the mare. *Theriogenology*, 30:887-892. 1988.
- [21] Soloff, M.S.; Alexandrova, M.; Fernstron, M.J. Oxytocin receptors: triggers from parturition and lactation. *Science*, 204: 1313-1315. 1979.
- [22] Soloff, M.S. y Fields, M. Changes in uterine Oxytocin receptor concentration throughout the estrous cycle of the cow. *Biology of Reproduction* 40:283-287. 1989.
- [23] Spilman, C.H. y Harper, J.K. Effects of prostaglandins on oviduct motility in estrous rabbits. *Biology of Reproduction*. 9:36-45. 1973.
- [24] Vallet, J.L.; Lamming, G.E. y Balten, M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and estradiol in ewe. *Journal Reproduction Fertility* 90:625-634. 1990.