

EFECTOS DE CALCIO Y PARATOHORMONA EN LA SINTESIS DE PROSTACICLINA POR TEJIDO VASCULAR*

**Dr. PATRICIO LOPEZ—JARAMILLO, Dr. FRANCISCO GUARNER,
Dr. SALVADOR MONCADA

*The Wellcome Research Laboratories, Inglaterra y **Laboratorio de Investigaciones,
Facultad de Medicina, Quito.*

RESUMEN

Se estudió la generación de prostaciclina por anillos de aorta de ratón en diferentes concentraciones de calcio. El calcio extracelular influyó en la síntesis de prostaciclina de un modo concentración dependiente, como reflejado por la liberación de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa dentro del medio. Los niveles de calcio alrededor del rango fisiológico (1.12–1.25 mM de calcio iónico) estimularon marcadamente la producción de prostaciclina en relación a las soluciones libres de calcio. Por otro lado, la adición de paratohormona purificada no cambió la producción de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa en ninguna de las concentraciones de calcio estudiadas. Estos datos sugieren que la hormona paratiroidea no tiene un efecto directo en la síntesis vascular de prostaciclina, sin embargo puede influir en la generación de prostaciclina a través de cambios en los niveles extracelulares de calcio. (*Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito)*, 12: 40., 1987).

La primera etapa en la generación de eicosanoides es el apareamiento de ácido araquidónico liberado por la acción de fosfolipasas. A pesar de ser bien conocido que la presencia de calcio es esencial para la actividad catalítica de las fosfolipasas (1), sin embargo todavía permanece controversial si el calcio que participa en este proceso es extra o intracelular (2, 3).

Además, la estimulación de la síntesis de prostaciclina endotelial por bradicinina (4), ionóforo de calcio (5), el mimético U-46619 del tromboxano A2 y la trombina (3) es mediado por influjo de calcio extracelular en un proceso dependiente de calmodulina (7). Por otro lado, el calcio tiene un papel crítico en la función del

músculo liso vascular (8), donde su presencia es esencial para su contractilidad, pero donde también ejerce una acción vasorelajante (9, 10). En verdad, aumentos en las concentraciones de calcio extracelular están asociados con relajación vascular y vasodilatación (10).

La hormona paratiroidea (PTH) aumenta los niveles circulantes de calcio e interesante-mente, tanto extractos de paratiroides, PTH purificado y PTH sintética fracción 1–34 inducen relajación vascular (11, 12). Este efecto vasodilatador de la PTH, en arterias coronarias, no es influenciado por agonistas o antagonistas adrenérgicos colinérgicos o histaminérgicos (13)

Ya que la prostaciclina es un potente va-

* *Investigación auspiciada por CONACYT y CONUEP. Es una reproducción autorizada del trabajo originalmente publicado en LIFE SCIENCES 40: 983–986, 1987.*

sodilatador (14), el objetivo de este estudio fue investigar si el calcio extracelular y la PTH estimulan la biosíntesis de prostaciclina por tejido vascular.

MATERIALES Y METODOS

Ratas Wistar machos (180–250 gramos de peso) fueron sacrificadas por dislocación cervical y la aorta abdominal fue inmediatamente removida y cortada en anillos como previamente descrito (15). Cinco anillos aórticos, pesando cada uno aproximadamente 0.7 mg, fueron colocados en un tubo test con 1 ml de solución de Krebs libre de calcio, conteniendo 0.50/o de albúmina sérica bovina y previamente gasificado a pH 7.4 con 95/o de O₂ y 5/o de CO₂. Después de dos horas de incubación a 37°C, el medio de incubación fue descartado y los anillos lavados dos veces con el mismo buffer frío. Los anillos "exhaustos" fueron luego incubados en 500 microlitros de solución de Krebs libre de albúmina durante 30 minutos, con diferentes concentraciones de calcio (añadido al medio de incubación como cloruro de calcio) y con diferentes concentraciones de PTH bovina purificada (Sigma St. Louis, Mo. U.S.A.). Finalmente, el sobrenadante fue colectado y almacenado con 10 microlitros por mililitro de indometacina (Sigma), a menos 20°C. La prostaciclina liberada fue cuantificada por radioinmunoensayo de su derivado estable, la 6-Keto-prostaglandina F1 alfa utilizando el método anteriormente descrito (16).

Los resultados son presentados como la media más menos el error estándar de cinco incubaciones por punto. Las diferencias estadísticas fueron analizadas por el test de Student.

RESULTADOS

El calcio extracelular influyó significativamente en la generación de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa por tejido vascular de un modo dependiente de la concentración.

Las concentraciones de calcio alrededor del rango fisiológico (en medio libre de pro-

teínas el rango fisiológico es de 1.12–1.25 mM) aumentó marcadamente la liberación de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa cuando fue comparado a las soluciones libres de calcio (ver fig. 1). La PTH bovina purificada fue estudiada a diferentes concentraciones testadas, en tanto que el calcio estimuló la producción de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa independientemente de la concentración de PTH (ver fig. 2). Finalmente, la indometacina (10 ng/ml) redujo en 90/o/o (n = 6) tanto la producción basal como la estimulación dependiente de calcio de la 6-Keto-prostaglandina F1 alfa.

DISCUSION

Los presentes resultados muestran que la generación de prostaciclina por tejido vascular "in vitro", como reflejado por 6-Keto-prostaglandina F1 alfa, es dependiente de los niveles extracelulares de calcio. El tejido aórtico incubado en medio libre de calcio produce menos cantidad de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa que especímenes incubados con niveles fisiológicos de calcio, sin embargo de que los mayores cambios en la generación de prostaciclina fueron observados por incrementos en la concentración de calcio a niveles superiores que el rango fisiológico. Hallazgos similares fueron recientemente reportados por Brown y Swartz (17), quienes utilizaron fragmentos o células dispersas de glándulas paratiroides bovinas.

Trabajos experimentales previos han demostrado que la presencia de calcio en el medio es esencial para la estimulación de síntesis de prostaciclina por hormonas como noradrenalina, angiotensina II o bradicinina (4, 5, 7) y sugieren que un influjo de calcio extracelular puede estar involucrado en el proceso. Nuestros datos refuerzan esta propuesta ya que una alta concentración de calcio extracelular, sin ningún otro estímulo, es capaz de incrementar la síntesis vascular de prostaciclina. Aumentos en el calcio extracelular pueden directamente inducir entrada de calcio a través de la activación del complejo calmodulina (7), que conocidamente estimula la actividad de la fosfolipasa A₂ (18).

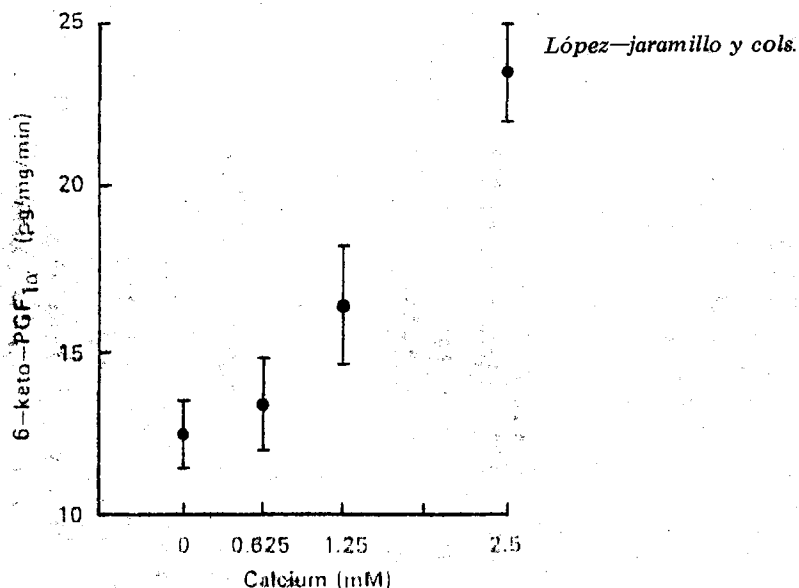


Figura 1.— Generación de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa por anillos aórticos de ratón incubados en buffer krebs a diferentes concentraciones. Media \pm error estandar de 5 experimentos. Los valores a la concentración de 2.5 mM de calcio son significativamente ($P < 0.01$) mayores que en bajas concentraciones de calcio

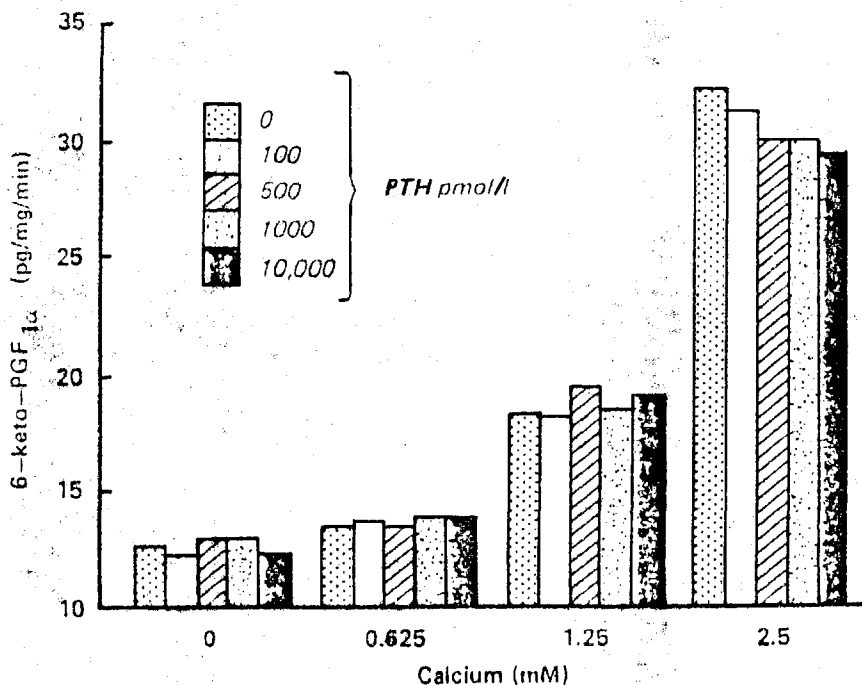


Figura 2.— Efectos de hormona paratiroidea (PTH) en la producción de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa por anillos aórticos de ratón incubados en solución de krebs a diferentes concentraciones de calcio. No se observaron cambios asociados con la adición de PTH al medio, en tanto que el calcio estimula la producción de 6-Keto-prostaglandina F1 alfa independientemente de la presencia de PTH.

La PTH purificada demostradamente relaja el músculo liso vascular, habiendo sido propuesto que la síntesis de prostaglandinas podría estar relacionada con este efecto, ya que fue mostrado que la indometacina inhibía la acción relajadora de PTH (19). Nuestros datos indican que, a diferencia del calcio, la PTH bovina purificada no incrementa directamente la producción de prostaciclina por anillos de aorta "in vitro" lo que hace improbable el mecanismo anteriormente sugerido. Sin embargo, nuestros datos son sugestivos de que cambios en los niveles de calcio extracelular mediados por PTH "in vivo" puedan influir en la síntesis de prostaciclina. Futuros experimentos son necesarios para investigar esta hipótesis.

BIBLIOGRAFIA

1. H. Van den Bosch, *Biochim. Biophys. Acta* 604: 191-246, 1980.
2. B.B. Weksler, C.W. Ley and E. A. Jaffe, *J. Clin. Invest.* 62:923-930, 1978.
3. A.F.A. Brotherton and J. C. Hoak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:495-499, 1982.
4. D. J. Crutchley, J. W. Ryan, U.S. Ryan and G.H. Fischer, *Biochim. Biophys. Acta* 751: 99-107, 1983.
5. A.R. Whorton, C.E. Willis, R.S. Kent and S.L. Young, *Lipids* 19:17-24, 1984.
6. J.Y. Jeremy, D.P. Mikhailidis and P. Dandona, *Eur. J. Pharmacol.* 107:259-262, 1985.
7. D. Stewart, E. Pountney and D. Fitchett, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62:1341-1346, 1984.
8. H. Kuriyama, Y. Ito, H. Suzuki, K. Kitamura and T. Itoh, *Am. J. Physiol.* 24: H641-H662, 1982.
9. D.F. Bohr, *Science*, 139: 597-599, 1983.
10. R.C. Wobb and D. H. Bohr, *Am. J. Physiol.* 235: C227-C232, 1978.
11. G.A. Charbin, *Eur. J. Pharmacol.* 3: 275-278, 1968.
12. D.A. Mccarron, D.H. Ellison and S. Anderson, *Am. J. Physiol.* 246: F96-F100, 1984.
13. M.F. Crass and P.K.T. Pang, *Science* 207: 1087-1089, 1980.
14. S. Moncada, and J.R. Vane, *Pharmacol. Rev.* 30: 293-331, 1979.
15. S. Moncada, E. A. Higgs and J. R. Vane, *Lancet*, i:18-21, 1977.
16. J.A. Salmón, *Prostaglandins*, 15:383-396, 1978.
17. E.M. Brown and S.L. Swartz, *Prostaglandins*, 29: 35-46, 1985.
18. P.Y.K. Wong and W. Y. Cheung, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 90: 473-480, 1979.
19. Y. Saglikes, S.G. Massry, K., Iseki, J.L., Nadler and V. M. Campese, *Am. J. Physiol.* 248: F674-F681, 1985.