

Síntesis de prostaglandinas en lechos mesentéricos de rata. Efectos de la acetilcolina y la bradiquinina*

HORACIO A. PEREDO, EDDA ADLER-GRASCHINSKY

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la capacidad del lecho mesentérico de rata para producir y liberar prostanoides en presencia y en ausencia del endotelio vascular, así como los efectos de los agentes vasodilatadores acetilcolina (AC) y bradiquinina (BQ) sobre esa producción. Los prostanoides liberados se midieron por cromatografía líquida de alta presión (HPLC). El lecho mesentérico perfundido produjo prostaglandina (PG) 6-cetoF_{1 α} , tromboxano (TX) B₂ (metabolitos estables de prostaciclina o PGI₂ y TXA₂, respectivamente), PGE₂ y PGF_{2 α} . La remoción del endotelio produjo una reducción del 50% en la liberación de PGI₂ y de TXA₂. En el lecho intacto, la BQ 1 μ M incrementó la liberación de PGI₂ y de PGE₂, mientras que la AC 10 μ M aumentó la liberación de PGI₂. En el lecho desendotelizado, la BQ incrementó la producción de PGI₂ y la AC la de TX. La inhibición de la NO-sintetasa con L-NAME 100 μ M inhibió el efecto de la BQ pero no modificó los efectos de la AC sobre la liberación de prostanoides. Se concluye que el lecho mesentérico de rata produce prostanoides vasodilatadores y vasoconstrictores de origen endotelial y extraendotelial, que la AC y la BQ estimulan la liberación de prostanoides de manera diferente y a través de mecanismos distintos y que el efecto de la BQ, especialmente en ausencia del endotelio, se traduciría en un mayor predominio de PG vasodilatadoras. REV ARGENT CARDIOL 1999; 67: 233-239.

Palabras clave Prostanoides - Acetilcolina - Bradiquinina - Lecho mesentérico - Endotelio - Oxido nítrico

INTRODUCCION

La pared vascular, en particular su capa endotelial, sintetiza y libera sustancias vasoactivas como el óxido nítrico (NO), las endotelinas y los prostanoides (metabolitos del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa). La prostaciclina o prostaglandina (PG)I₂, el principal prostanoides de origen vascular, es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria. (1, 2) Por otra parte, el tejido vascular de rata produce PGE₂, PGF_{2 α} (3, 4) y tromboxano (TX) A₂, (5) un potente vasoconstrictor y agregante plaquetario. Los efectos vasodilatadores de la acetilcolina (AC) y la bradiquinina (BQ) dependen del endotelio vascular y, al menos en parte, de la liberación de NO. (6) Además, se demostró que

la AC incrementa la liberación de PGI₂ en la microcirculación del músculo cremáster de hámster, (7) mientras que la BQ la estimula en el pulmón perfundido de cobayo (8) y en la arteria umbilical humana. (9) Sin embargo, mientras que en el lecho coronario del conejo la BQ induce la liberación de prostanoides y de NO en proporciones similares, en la vasodilatación inducida por AC en el mismo tejido la participación del NO es netamente superior a la de PGI₂. (10) Por otra parte, en arteriolas piales de conejo, la inhibición de la síntesis de prostanoides reduce el efecto vasodilatador de la BQ pero no el de la AC, (11) habiéndose observado efectos similares en la microcirculación cerebral del gato *in vivo*. (12)

El objetivo del presente trabajo es el de comparar

* Este trabajo obtuvo el Premio Dr. Luis Moledo al mejor trabajo de Investigación Básica en Hipertensión Arterial en el año 1997, otorgado por el Consejo Argentino de Hipertensión Arterial Dr. Eduardo Braun Menéndez de la Sociedad Argentina de Cardiología. Instituto de Investigaciones Farmacológicas, CONICET, Buenos Aires

Trabajo recibido para su publicación: 1/99 Aceptado: 2/99

Dirección para separatas: Horacio A. Peredo, Instituto de Investigaciones Farmacológicas, CONICET. Junín 956, 5° piso, (1113) Buenos Aires, República Argentina

los efectos de la AC y la BQ sobre la producción de prostanoideos en el lecho mesentérico aislado de rata, así como estudiar la posible intervención del endotelio vascular y del NO.

MATERIAL Y METODO

Preparación del lecho mesentérico

Los experimentos se llevaron a cabo con ratas machos de la cepa Wistar de entre 250 y 300 g. Los animales fueron anestesiados con éter, se les abrió el abdomen y se removió y canuló el lecho vascular mesentérico. (13) El lecho mesentérico aislado se colocó en un soporte de perspex a 37°C y se perfundió con solución de Krebs gaseada con carbógeno (5% CO₂, 95% O₂). La composición de la solución fue la siguiente: (mM) NaCl 118; KCl 4,7; MgCl₂ 1,2; NaHPO₄ 1,0; CaCl₂ 2,6; NaHCO₃ 25,0; glucosa 11,1; pH final 7,4. La perfusión se realizó por medio de una bomba peristáltica (Desaga, Heidelberg) a un flujo constante de 2 ml/min. Los cambios en la resistencia vascular se midieron como modificaciones en la presión de perfusión y se registraron mediante un transductor de presión (Statham) conectado a un polígrafo (Grass 7B).

En todos los experimentos, la preparación se dejó equilibrar durante 30 minutos después de montada. La liberación basal de prostanoideos se midió en el perfusato recolectado durante un período de 15 minutos inmediatamente después del período de equilibrio. El perfil de liberación de prostanoideos se mantuvo constante durante tres horas.

Extracción y HPLC de prostanoideos

Las muestras del perfusato se recolectaron durante períodos de 15 minutos y se acidificaron a pH 3,5 con ácido fórmico 1 M. A continuación se realizaron dos extracciones con volúmenes iguales de cloroformo. Las fracciones clorofórmicas se reunieron y se llevaron a sequedad con N₂. La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en fase reversa se llevó a cabo con una columna C18 (Hibar, E. Merck, 250 x 4 mm, 5 μ). El solvente utilizado fue PO₄H₃ 1,7 mM 67,2: acetonitrilo 32,8 V/V. El flujo fue de 1 ml/min y se midió la absorción UV a 218 nm. Las muestras secas se resuspendieron en 0,15 ml de fase móvil y se inyectaron en el sistema de HPLC.

La cuantificación se llevó a cabo por cromatografía de estándares conocidos de los prostanoideos analizados simultáneamente con las muestras, y el contenido de prostanoideos de éstas se calculó por extrapolación. Todos los valores se corrigieron de acuerdo con ensayos de recuperación. (14) Los resultados se expresaron como ng de prostanoide por mg de peso de tejido y por minuto de perfusión. El análisis estadístico se realizó por ANOVA. A valo-

res de F significativamente diferentes, las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de Tukey. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos.

Desendotelización

En algunos experimentos, la capa endotelial del lecho mesentérico se removió mediante la perfusión con saponina 0,1% V/V durante 45 segundos. La efectividad de la remoción del endotelio se evaluó mediante la verificación de la ausencia del efecto relajante de la infusión de AC 0,1 μM sobre el lecho previamente contraído mediante la infusión de noradrenalina 1 μM.

Protocolo experimental

A fin de determinar el efecto de la BQ y de la AC sobre la liberación de prostanoideos, se perfundió el lecho mesentérico durante 45 minutos con una solución de BQ 1 μM o de AC 10 μM en Krebs. Se recolectó el perfusato correspondiente a los últimos 15 minutos para la medición de prostanoideos.

Con el objeto de estudiar los mecanismos implicados en los efectos de la AC y la BQ sobre la síntesis de prostanoideos, se llevaron a cabo experimentos en los que se utilizó atropina 1 μM en el caso de la AC y d-Arg⁹ Leu⁸ BQ 10,0 μM (bloqueante de receptores B1) y D-Arg-Hyp³ D-Phe⁷ BQ, 1,0 μM (bloqueante de receptores B2) en el caso de la BQ. En todos los experimentos los bloqueantes se perfundieron desde 30 minutos previos a la adición de AC o BQ y después durante 45 minutos y se recolectó el perfusato de los últimos 15 minutos para la medición de prostanoideos.

Para investigar si los efectos de la BQ y la AC eran influidos por la producción endógena de óxido nítrico (NO), se procedió a perfundir el lecho simultáneamente con el inhibidor de la NO-sintetasa, N^G-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) 100 μM y con BQ o AC durante 45 minutos. Se recolectó el perfusato de los últimos 15 minutos para la medición de prostanoideos. El isómero inactivo D-NAME se utilizó como control en otra serie de experimentos. En aquellos casos en los que se utilizó L-arginina 100 μM, ésta se agregó al medio de perfusión después del período de equilibrio y se añadió L-NAME 100 μM y BQ 1 μM 30 minutos después. A partir de ese momento, se perfundió el lecho mesentérico durante 45 minutos; se recolectó el perfusato correspondiente a los últimos 15 minutos y se utilizó para la medición de prostanoideos.

RESULTADOS

La Figura 1 muestra la producción basal de prostanoideos del lecho mesentérico de rata aislado y perfundido, así como los efectos de la AC y la BQ sobre

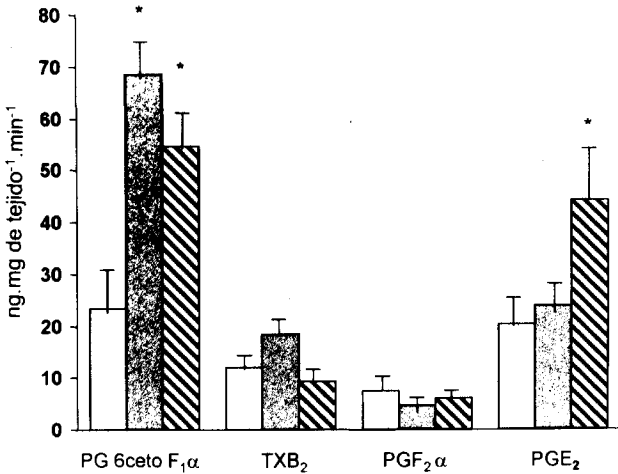


Fig. 1. Efectos de la AC y de la BQ sobre la liberación de prostanoideos en el lecho mesentérico aislado de rata. □ Basal (n = 7); ▨ AC 10 μM (n = 6) ▩ BQ 1 μM (n = 6). Los resultados se expresan como la media ± error estándar de la media. * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los valores basales.

ella. En condiciones basales, los prostanoideos liberados al medio de perfusión fueron PG 6-cetoF_{1α}, TXB₂ (metabolitos estables de prostaciclina y TXA₂, respectivamente), PGF_{2α} y PGE₂. El metabolito producido en mayor cantidad fue PG6-cetoF_{1α} seguida por PGE₂, TXB₂ y PGF_{2α}. La perfusión con AC 10 μM incrementó la liberación de PG6-cetoF_{1α} en un 100% con relación a los valores basales sin alterar la producción de los demás prostanoideos analizados. Por su parte, la BQ 1 μM provocó un incremento del 100% en la liberación de PG6-cetoF_{1α} y en la de PGE₂, sin modificar la de TXB₂ ni la de PGF_{2α}. La Figura

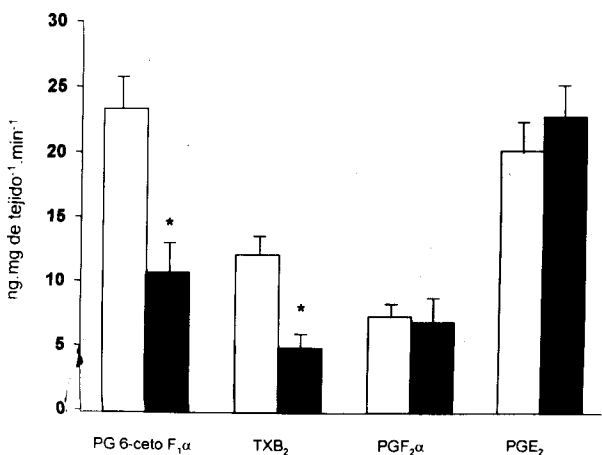


Fig. 3. Efecto de la remoción del endotelio sobre la liberación de prostanoideos en el lecho mesentérico aislado de rata. □ Control (n = 7); ■ Desendothelializado (n = 6). * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los valores control.

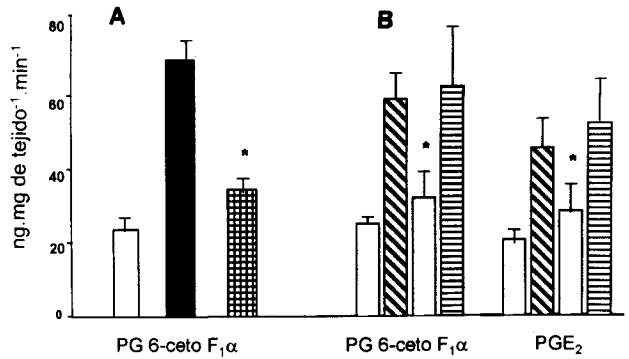


Fig. 2. A: Efecto de la atropina sobre la liberación de prostanoideos estimulada por la AC en el lecho mesentérico aislado de rata. □ Basal (n = 7); ■ AC 10 μM (n = 6); ▨ atropina 1 μM + AC 10 μM (n = 5). B: Efecto de bloqueantes de receptores de BQ sobre la liberación de prostanoideos estimulada por la BQ en el lecho mesentérico aislado de rata. □ Basal (n = 7); ▨ BQ 1 μM (n = 6); □ bloqueante B2 1 μM + BQ 1 μM (n = 5); ▨ bloqueante B1 10 μM + BQ 1 μM (n = 5). * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los correspondientes valores estimulados.

2A muestra la inhibición producida por el bloqueante muscarínico atropina 1 μM sobre la producción de PG6-cetoF_{1α} estimulada por la AC. La Figura 2B muestra los efectos de los bloqueantes de los receptores de BQ de tipo B1 y B2. El bloqueante B2 previno los efectos estimulantes de la BQ, mientras que el de tipo B1 no tuvo efecto alguno.

En la Figura 3 se observan los efectos de la remoción del endotelio sobre la producción de prostanoideos en el lecho mesentérico. La desendothelización

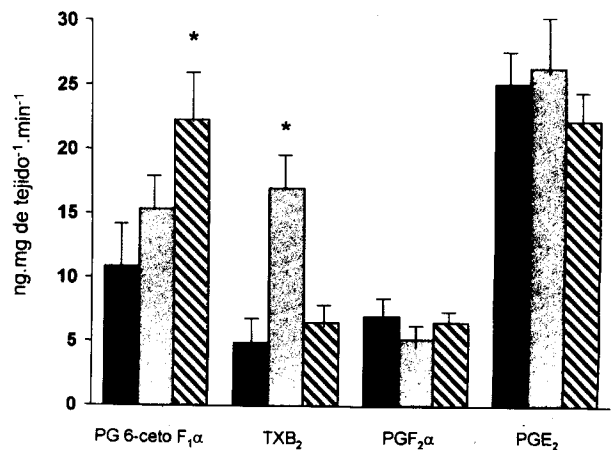


Fig. 4. Efectos de la AC y la BQ sobre la liberación de prostanoideos en el lecho mesentérico desendothelializado. ■ Basal sin endotelio (n = 6); ▨ AC 10 μM (n = 6); ▩ BQ 1 μM (n = 6). * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los valores basales sin endotelio.

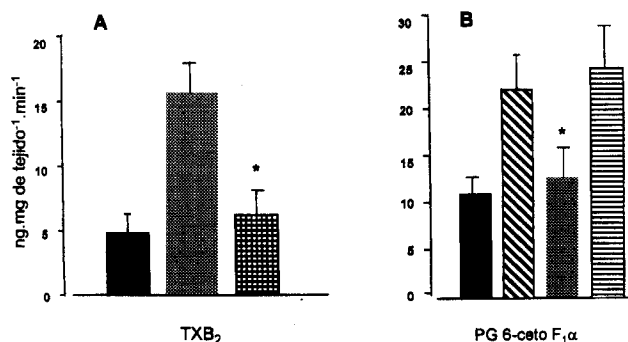


Fig. 5. A: Efecto de la atropina sobre la liberación de TXB₂ estimulada por la AC en el lecho mesentérico desendotelizado. ■ Basal sin endotelio (n = 6); ▨ AC 10 μM (n = 5); ▩ atropina 1 μM + AC 10 μM (n = 5). B: Efecto de bloqueantes de receptores de BQ sobre la liberación de PG6-cetoF_{1α} estimulada por la BQ en el lecho mesentérico desendotelizado. ■ Basal sin endotelio (n = 6); ▨ BQ 1 μM (n = 6); ▩ bloqueante B2 1 μM + BQ 1 μM (n = 5); ▪ bloqueante B1 10 μM + BQ 1 μM (n = 5). * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los correspondientes valores estimulados.

con saponina 0,1% causa una disminución del 50% en la liberación de PG6-cetoF_{1α} y de TXB₂ con relación a los valores basales, sin alterar la producción de los metabolitos restantes. En la preparación desendotelizada, la AC 10 μM incrementó la liberación de TXB₂, mientras que la BQ 1 μM produjo un aumento en la liberación de PG6-cetoF_{1α} (Figura 4). Los demás prostanoides analizados no fueron modificados por ninguno de los dos agentes. En la Figura 5 se observa que los efectos estimulantes de la

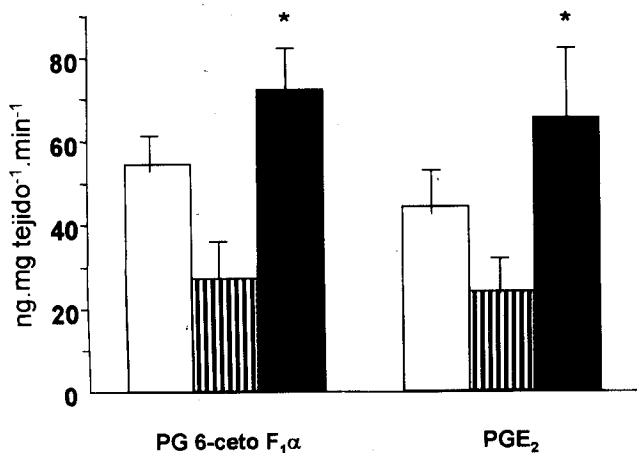


Fig. 7. Efecto de la L-arginina sobre la liberación de PG6-cetoF_{1α} y de PGE₂ estimulada por la BQ en presencia de L-NAME. □ BQ 1 μM (n = 6); ▨ L-NAME 100 μM + BQ 1 μM (n = 5); ■ L-arginina 100 μM + L-NAME 100 μM + BQ 1 μM (n = 5). * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los correspondientes valores en ausencia de L-arginina.

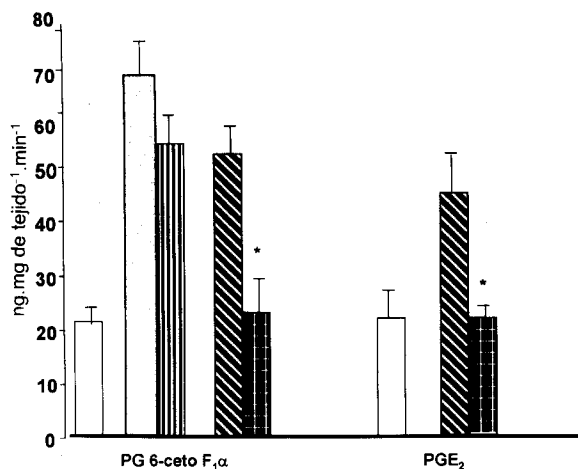


Fig. 6. Efectos de L-NAME sobre la liberación de PG 6-cetoF_{1α} y de PGE₂ estimulada por la AC y BQ en el lecho mesentérico aislado de rata. □ Control (n = 7); ▨ AC 10 μM (n = 6); ▩ L-NAME 100 μM + AC 10 μM (n = 5); ▪ BQ 1 μM (n = 6); ▫ L-NAME 100 μM + BQ 1 μM (n = 5). * Significativamente diferente (p < 0,05) en comparación con los correspondientes valores en ausencia de L-NAME.

AC y la BQ en lechos sin endotelio fueron prevenidos por atropina (5A) y por un bloqueante de receptores B2 (5B), respectivamente.

Con el fin de investigar si la producción de NO endógeno se encuentra relacionada con los efectos de la AC y la BQ sobre la liberación de prostanoides, se perfundió el lecho mesentérico con el inhibidor

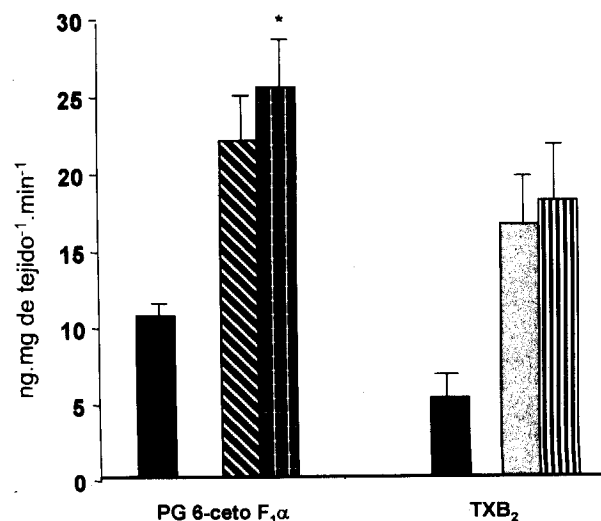


Fig. 8. Efectos de L-NAME sobre la liberación de PG6-cetoF_{1α} y de TXB₂ estimulada por la AC y la BQ en el lecho mesentérico desendotelizado. ■ Control sin endotelio (n = 6); ▨ BQ 1 μM (n = 5); ▩ L-NAME 100 μM + BQ 1 μM (n = 5); ▪ AC 10 μM (n = 6); ▫ L-NAME 100 μM + AC 10 μM (n = 5).

Tabla 1
Efectos de L-NAME, D-NAME y L-arginina sobre la producción basal de prostanoides en lechos mesentéricos aislados de rata

Grupos experimentales	PG 6-cetoF _{1α}	TXB ₂	PGF _{2α}	PGE ₂
Controles (n=7)	23,3±1,5	12,0±1,0	7,3±1,3	20,2±3,0
L-NAME 100 μM (n=6)	24,8±2,2	15,4±3,2	8,8±2,3	23,2±4,5
D-NAME 100 μM (n=5)	29,7±4,8	16,7±3,5	6,9±2,0	26,4±5,1
L-arginina 100 μM (n=5)	26,3±4,7	13,2±2,3	8,3±1,7	25,0±4,4

Los resultados se expresan como medias ± error estándar de la media, en ng prostanoides · mg tejido⁻¹ · min perfusión⁻¹.

de la NO-sintetasa, L-NAME 100 μM, como se ve en la Figura 6, el L-NAME no modificó el efecto de estimulación de AC sobre la liberación de PG6-cetoF_{1α} pero previno la estimulación de BQ sobre la liberación de PG6-cetoF_{1α} y PGE₂. El isómero inactivo D-NAME 100 μM no tuvo efectos sobre la producción de prostanoides (datos no mostrados).

Con el objeto de confirmar si esta inhibición de L-NAME sobre el efecto estimulante de BQ en la producción de prostanoides se debía a una disminución en la síntesis de NO, se llevaron a cabo experimentos en presencia de L-arginina, el precursor de la síntesis de NO. La L-arginina 100 μM fue capaz de revertir totalmente estos efectos del L-NAME (Figura 7). La Figura 8 muestra que, en lechos mesentéricos desprovistos del endotelio vascular, el L-NAME no ejerció efecto alguno sobre la liberación de prostanoides estimulada por AC ni por BQ. El L-NAME no modificó la liberación de prostanoides en lechos intactos, como tampoco lo hicieron el D-NAME o la L-arginina (Tabla 1).

DISCUSION

Los presentes resultados muestran que el lecho mesentérico de rata aislado y perfundido produce y libera al medio de perfusión prostaciclina, TXA₂ (medidos como sus metabolitos estables PG8-cetoF_{1α} y TXB₂, respectivamente), PGF_{2α} y PGE₂. Por otra parte, esta producción es estimulada por AC y por BQ a través de mecanismos que difieren para ambos agentes vasodilatadores.

El hecho de que la BQ, un vasodilatador fisiológico, estimule la liberación de prostaciclina en el lecho mesentérico de rata está de acuerdo con datos previos acerca de los efectos de la BQ en células endoteliales en cultivo (15) y en venas umbilicales humanas perfundidas. (9) Además, el efecto de estimulación ejercido por la BQ sobre la liberación de PGE₂, una prostaglandina con propiedades vasodilatadoras, se relaciona con hallazgos obtenidos en arterias de conejo *in vitro*. (16) Por su parte, la observación acerca de la capacidad de la AC de incrementar la producción de prostaciclina está de acuerdo

con resultados obtenidos en el corazón perfundido de conejo (10) y en la microcirculación del músculo cremáster de hámster. (7) Estos efectos de la AC observados en nuestro trabajo se ejercerían a través de receptores de tipo muscarínico, en vista de la inhibición de esos efectos por parte de la atropina. En cuanto a los efectos de la BQ, éstos son ejercidos a través de la activación de dos tipos de receptores, denominados B1 y B2. (17) Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el incremento en la producción de prostanoides inducido por BQ en el lecho mesentérico se relacionaría con la activación de receptores B2, dado que ese incremento fue suprimido por el bloqueante selectivo B2, mientras que no fue modificado en presencia del bloqueante selectivo B1. Este resultado está de acuerdo con trabajos que muestran que la BQ estimula la producción de eicosanoides a través de la activación de receptores B2 en vasos sanguíneos. (18)

En cuanto al papel desempeñado por el endotelio en el lecho mesentérico, el hecho de que su remoción haya reducido no sólo la liberación del vasodilatador prostaciclina sino también la del vasoconstrictor tromboxano resultó un hallazgo inesperado, si bien existen antecedentes de producción de esta sustancia en arterias humanas, (19, 20) en la microvasculatura cerebral bovina (21) y en células endoteliales en cultivo. (22) La evidencia de que después de la remoción de la capa endotelial la BQ estimula la liberación de prostaciclina, pero no ya la de PGE₂, sugeriría que la producción de esta prostaglandina dependería de la presencia del endotelio. No obstante, esta posibilidad podría descartarse si se tiene en cuenta que después de la desendotelización la producción basal de PGE₂ no se modificó. Esta incapacidad de la BQ para estimular la producción de PGE₂ en ausencia del endotelio podría sugerir que los receptores con los cuales interactuaría la BQ para ejercer ese efecto serían endoteliales, si bien se requieren experimentos adicionales para probar esta hipótesis.

Por otra parte, el hecho de que en ausencia del endotelio la AC estimule la liberación de tromboxano sin modificar la de los demás metabolitos apoya la hipótesis de que la AC se comporta de manera diferente de la BQ en lo que a producción de prostanoides se refiere. Estas acciones de la AC se ejercerían probablemente sobre receptores muscarínicos ubicados en el músculo liso vascular, los cuales resultarían inaccesibles a la AC cuando el endotelio se encuentra intacto.

La observación de que la inhibición de la síntesis de NO previno la estimulación de la liberación de prostaciclina y de PGE₂ por parte de la BQ pero no la de prostaciclina por la AC sugiere un papel para el NO endógeno en el mecanismo del incremento de la liberación de prostanoides por la BQ.

El hecho de que un inhibidor de la NO-sintetasa en el endotelio vascular como el L-NAME (23) no haya modificado la liberación basal de prostanoides pero haya prevenido los efectos estimulantes de la BQ sobre la producción de prostaciclina y PGE₂ coincide con observaciones realizadas en otros tejidos, como el pulmón de rata, en el que la inhibición de la NO-sintetasa no modificó la liberación basal de PG pero redujo la liberación de prostaciclina inducida por lipopolisacáridos. (24) La posibilidad de que los efectos de L-NAME sobre la liberación de prostanoides que se observaron en el presente estudio pudieran deberse a un antagonismo con receptores muscarínicos, como se demostró para los efectos contráctiles de la AC en aorta y arterias coronarias de conejo y de perro, (25) puede descartarse, ya que en nuestros experimentos el L-NAME no modificó los efectos de la AC sobre la producción de prostanoides, los cuales, como se demuestra en este mismo estudio, son bloqueados en presencia de atropina.

Tal como se esperaba, en lechos mesentéricos desendotelizados, el L-NAME no ejerció efecto alguno sobre la liberación de prostanoides, ya sea basal o estimulada por BQ o AC, lo cual sugiere que los efectos del inhibidor sobre la estimulación de la liberación de prostaciclina y PGE₂ por la BQ se ejercerían sobre una NO-sintetasa endotelial. Además, el hecho de que la L-arginina haya prevenido los efectos inhibitorios del L-NAME no hace sino reforzar la hipótesis de un papel del NO endógeno en las acciones de la BQ sobre la liberación de prostanoides.

Se concluye que: 1) El lecho mesentérico de rata produce prostanoides vasodilatadores y vasoconstrictores, de origen endotelial y extraendotelial. 2) Los vasodilatadores AC y BQ estimulan la producción de prostanoides de manera diferente y a través de diferentes mecanismos. 3) En ausencia del endotelio, estas diferencias se acentúan, ya que la BQ estimula la producción de una sustancia vasodilatadora y antiagregante, mientras que la AC incrementa la liberación de un vasoconstrictor y proagregante. Estas diferencias sugerirían que, en circunstancias en las que se produce daño endotelial, como la hipertensión y la aterosclerosis, la AC y la BQ podrían desempeñar papeles diferentes.

SUMMARY

PROSTAGLANDINS SYNTHESIS IN RAT MESENTERIC BED: EFFECTS OF ACETYLCHOLINE AND BRADYKININ

The capability of the rat mesenteric bed to produce and release prostanoids as well as the influence of the vascular endothelium and the vasodilators acetylcholine (ACh) and bradykinin (BK) on that

production were studied. Prostanoids were measured by high-pressure liquid chromatography (HPLC). The perfused mesenteric bed produced prostaglandin (PG) 6-ketoF_{1α}, thromboxane (TX) B₂ (stable metabolites of prostacyclin and TXA₂, respectively), PGE₂ and PGF_{2α}. Removal of the endothelium induced a 50% reduction in the release of prostacyclin and TXA₂. In the intact vascular bed, 1 μM BK increased the production of prostacyclin and PGE₂, whereas 10 μM ACh increased prostacyclin production. In the de-endothelialized vascular bed, BK increased prostacyclin release whereas ACh increased TX production. The inhibition of NO-synthase with 100 μM L-NAME inhibited the BK effects but did not modified the ACh effects on prostanoid release. It is concluded that the rat mesenteric vascular bed produces vasodilator and vasoconstrictor prostanoids from endothelial and non-endothelial sources; that ACh and BK stimulates prostanoid release with different patterns and by different mechanisms and that the BK effects, particularly in the absence of the vascular endothelium, could induce a predominance of vasodilator prostanoids.

Key words Prostanoids - Acetylcholine - Bradykinin - Endothelium - Nitric oxide

Agradecimiento

Deseamos agradecer a la Lic. Fernanda T. De Fino por la excelente colaboración técnica prestada para este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1977; 263: 663-665.
2. Moncada S, Herman AG, Higgs E, Vane JR. Differential formation of prostacyclin (prostaglandin X or prostaglandin I₂) by layers of the arterial wall. An explanation for the antithrombotic properties of vascular endothelium. *Thrombosis Res* 1977; 11: 323-344.
3. Lennon EA, Poyser NL. Effects of age on vascular prostaglandin production in male and female rats. *Prostaglandins Leuk Med* 1986; 25: 1-15.
4. Ishimitsu T, Uehara Y, Iwai I y col. Vascular eicosanoid production in experimental hypertensive rats with different mechanism. *Prostaglandins Leuk Ess Fatty Acids* 1991; 43: 179-184.
5. Soma M, Manku MS, Jenkins DK, Horrobin DF. Prostaglandin and thromboxane outflow from the perfused mesenteric vascular bed in spontaneous hypertensive rats. *Prostaglandins* 1985; 29: 323-333.
6. Furchgott RF. The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1984; 24: 175-197.
7. Dewit C, Von Bismarck P, Pohl U. Mediator role of prostaglandins in acetylcholine-induced vasodilation and control of resting vascular diameter in the hamster cremaster microcirculation in vivo. *J Vasc Res* 1993; 30: 272-278.
8. Bakhle YS, Moncada S, de Nucci G, Salmon JA. Differential release of eicosanoids by bradykinin, arachidonic acid and calcium ionophore A 23187 in guinea-pig perfused lung. *Br J Pharmac* 1985; 86: 55-62.

9. Haugen G, Stray-Pedersen S, Bjørø K. The influence of bradykinin on the prostanoid production in umbilical arteries in preeclampsia. *Clin Exp Hypert. Part B - Hypertension in Pregnancy* 1992; 11: 147-163.
10. Lamontagne D, König A, Bassenge E, Busse R. Prostacyclin and nitric oxide contribute to the vasodilator action of acetylcholine and bradykinin in the intact rabbit coronary bed. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20: 652-657.
11. Copeland JR, Willoughby KA, Tynan TM, Moore SF, Ellis EF. Endothelial and nonendothelial cyclooxygenase mediated rabbit pial arteriole dilation by bradykinin. *Am J Physiol Heart and Circulatory Physiology* 1995; 37: H458-H466.
12. Kontos HA, Wei EP, Kukreja RC, Ellis EF, Hes ML. Differences in endothelium-dependent cerebral dilation by bradykinin and acetylcholine. *Am J Physiol* 1990; 258 (5 Pt 2): H1261-H1266.
13. Mc Geger DD. The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor response in perfused mesenteric blood vessels of the rat. *J Physiol* 1965; 177: 21-30.
14. Peredo HA, Filinger EJ, Sanguinetti S, Lorenzo PS, Adler-Graschinsky E. Prostanoid production in hypoxic rat isolated atria: influence of acute diabetes. *Prostaglandins Leuk Ess Fatty Acids* 1994; 51: 231-234.
15. Matthews JS, Keen M, Key BJ. Inhibition of bradykinin-stimulated prostacyclin release from endothelial cells following chronic exposure to sodium nitroprusside. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 283P.
16. Förstemann U, Hertting G, Neufang B. The role of endothelial and nonendothelial prostaglandins in the relaxation of isolated blood vessels of the rabbit induced by acetylcholine and bradykinin. *Br J Pharmacol* 1986; 87: 521-532.
17. Regoli D, Barabé J. Pharmacology of bradykinin and related kinins. *Pharmacol Rev* 1992; 32: 1-36.
18. Schrör K. Role of prostaglandins in the cardiovascular effects of bradykinin and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 (Suppl 9): S68-S73.
19. Lin PJ, Chang CH, Pearson PJ y col. Thromboxane A: an endothelium-derived vasoconstrictor in human internal mammary arteries. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 97-100.
20. Tuvemo T, Strandberg K, Hamberg M, Samuelsson B. Formation and action of prostaglandin endoperoxides in the isolated human umbilical artery. *Acta Physiol Scand* 1976; 96: 145-149.
21. Maurer P, Moskowitz MA, Levine L y col. The synthesis of prostaglandins by bovine cerebral microvessels. *Prostaglandins Med* 1980; 4: 153-162.
22. Levine L, Alam I. Arachidonic acid metabolism by cells in culture: analyses of culture fluids for cyclo-oxygenase products by radioimmunoassay before and after separation by high pressure liquid chromatography. *Prostaglandins Med* 1979; 3: 295-304.
23. Rees DD, Palmer RMJ, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 746-752.
24. Sautebin L, Di Rosa M. Nitric oxide modulates prostacyclin biosynthesis in the lung of endotoxin-treated rats. *Eur J Pharmacol* 1994; 262: 193-196.
25. Buxton ILO, Cheek DJ, Eckman D, Westfall DF, Sanders KM, Keef KD. N^G-nitro L-arginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Circ Res* 1993; 72: 387-395.