La producción de Prostaglandina por Estimulación Muscarínica en el Músculo Ciliar del Cerdo

G Benozzi^{1,2}, E Quinteros Villarruel¹, S. Facal^{1,2}, J Benozzi², ES Borda¹, B Orman¹.

¹Cátedra de Farmacología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires. ²Centro de Investigación Avanzada de la Presbicia (CIAP). Buenos Aires, Argentina.

Resumen

El músculo ciliar del cerdo (MC) es un músculo liso en forma de anillo cuyas fibras musculares (circulares, transversales y longitudinales) al contraerse provocan un cambio en la forma y la posición del cristalino permitiendo la acomodación. En este estudio evaluamos la capacidad del músculo ciliar del cerdo (MC) en presencia y en ausencia de un agonista colinérgico (pilocarpina) y los respectivos antagonistas de los subtipos de receptor en la generación de prostaglandina (PGE₂).

Mediante la técnica de ELISA valoramos el efecto de pilocarpina y los antagonistas colinérgicos de los subtipos M₁ (1 x 10⁻⁶ M pirenzepina) y M₃ (4.5 x 10⁻⁹ M J104129) como así también de diferentes inhibidores enzimáticos sobre la producción de la PGE₂.

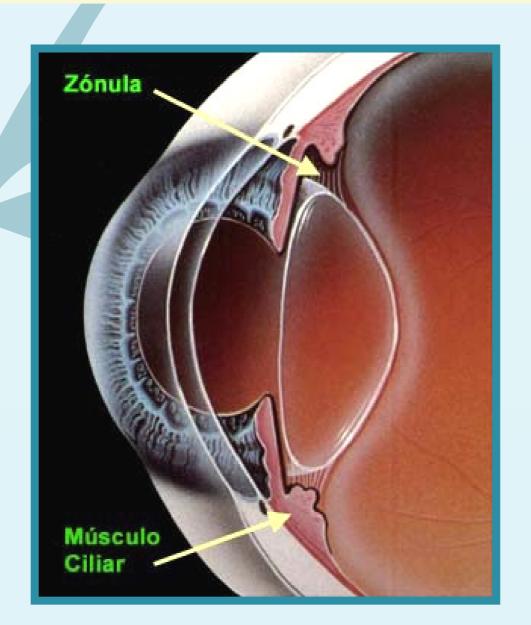
Se observó que la pilocarpina a concentraciones crecientes (desde 1 x 10^{-10} a 1 x 10^{-6} M) incrementa la producción de PGE₂ dependiente de la dosis en un 45%, alcanzando un efecto máximo a 1 x 10^{-7} M. Este efecto fue inhibido en presencia de 1 x 10^{-6} M de atropina e indometacina 5 x 10^{-4} M en un 34% y 31%, respectivamente.

En presencia de los antagonistas 1 x 10⁻⁶ M pirenzepina y 4.5 x 10⁻⁹ M J104129 se observó una inhibición del efecto estimulante de la pilocarpina de 31% y 38%.

La estimulación se inhibió un 33% en presencia de 1 x 10^{-6} M U73122 (inhibidor de la fosfolipasa C) y un 36% en presencia de 1 x 10^{-6} M OBAA (inhibidor de la fosfolipasa A_2) como así también la movilización del calcio ya que en presencia de 1 x 10^{-5} verapamilo (bloqueante del canal L de calcio) se evidenció una inhibición del 29% mientras que en presencia de A23187 (ionóforo de calcio) se estimuló la producción de PGE $_2$ en 65%.

Estos resultados demuestran la capacidad de la pilocarpina de unirse a los receptores muscarínicos colinérgicos del subtipo M₁ y M₃ activando la transducción de señales y de segundos mensajeros vinculados a la producción de PGE₂-Ca²⁺ dependiente.

Materiales y Métodos



Esquema de corte longitudinal del ojo.



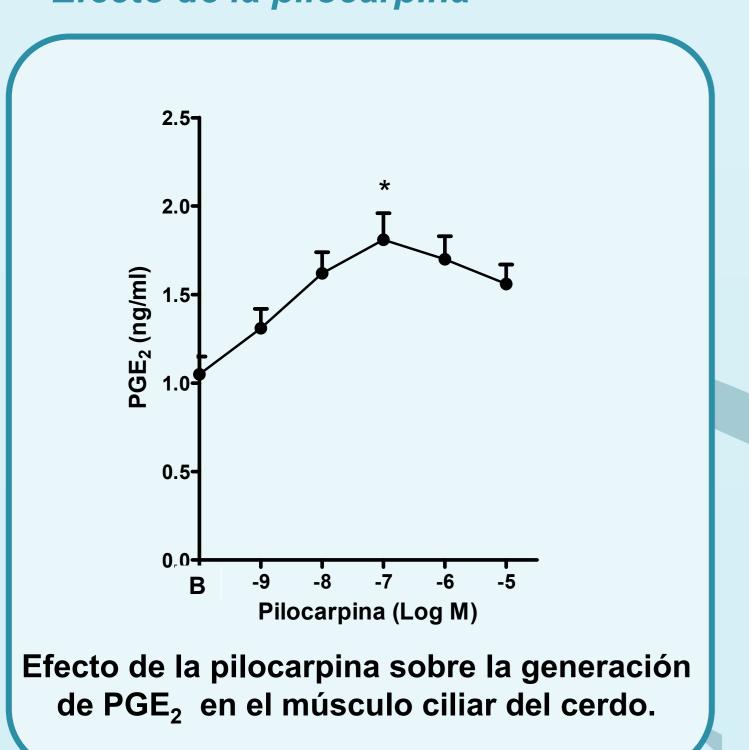
Foto del músculo ciliar del cerdo.

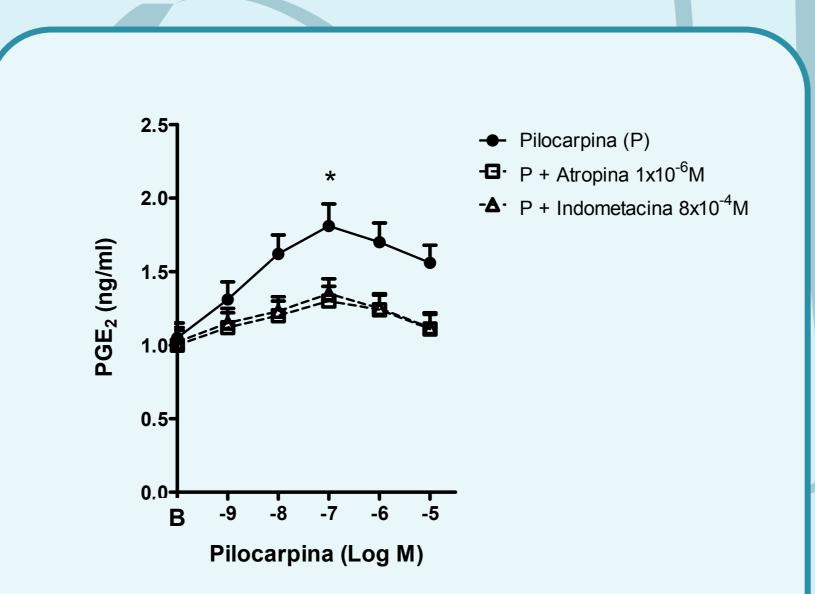
Para la obtención del músculo ciliar se realizó un corte sagital del ojo del cerdo a la altura del ecuador y se extrajo el humor vítreo y el cristalino. Se separó el cuerpo ciliar del iris y de la esclera.

El músculo ciliar obtenido se incubó en presencia y ausencia de pilocarpina, de los antagonistas muscarínicos y los inhibidores enzimáticos. La PGE₂ generada se cuantificó por el método de ELISA con un kit comercial.

Resultados

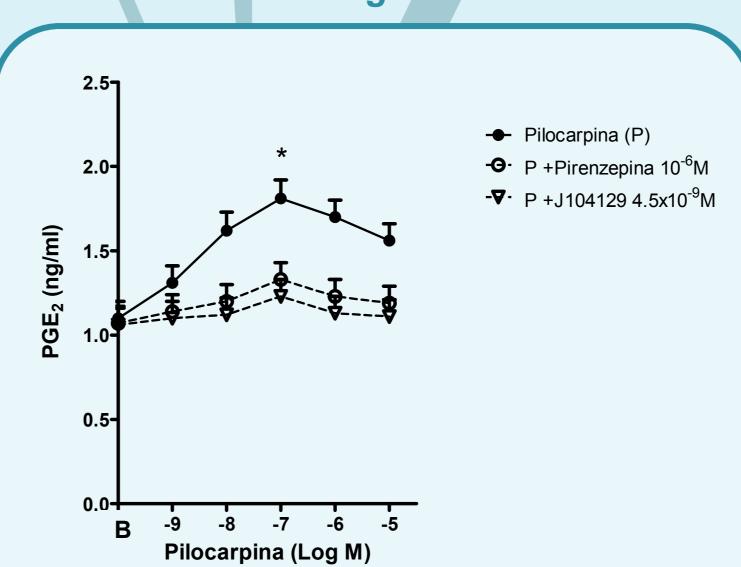
Efecto de la pilocarpina



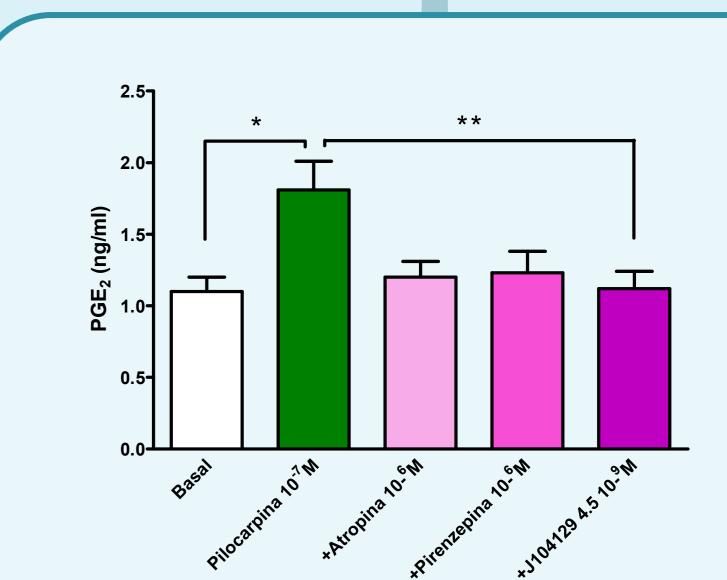


Efecto de la atropina (antagonista muscarínico) y la indometacina sobre la estimulación ejercida por la pilocarpina.

Análisis de los antagonistas muscarínicos

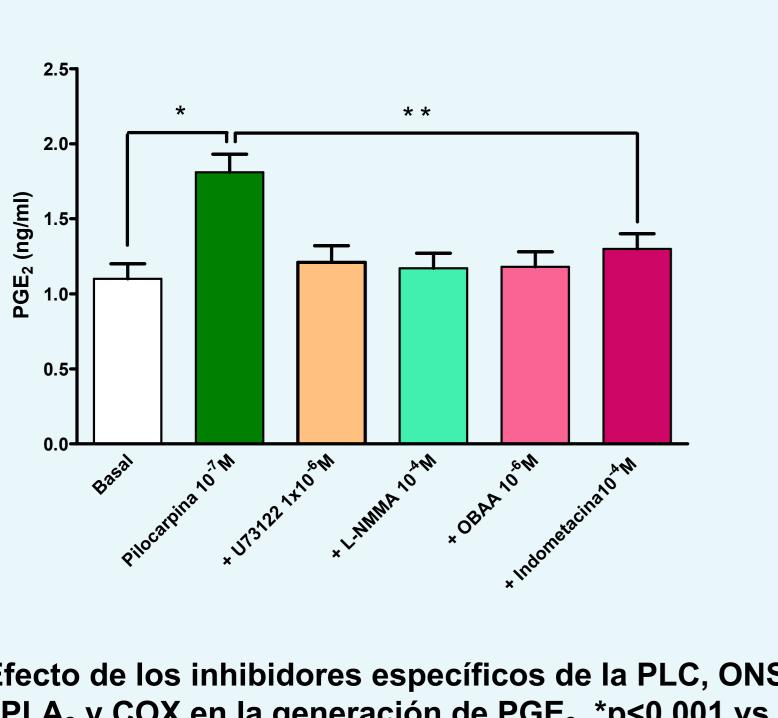


Curva concentración respuesta donde se muestra la Inhibición en la generación de PGE₂ en presencia de pirenzepina y J104129 (inhibidores específicos de los subtipos M₁ y M₃) en presencia de pilocarpina.

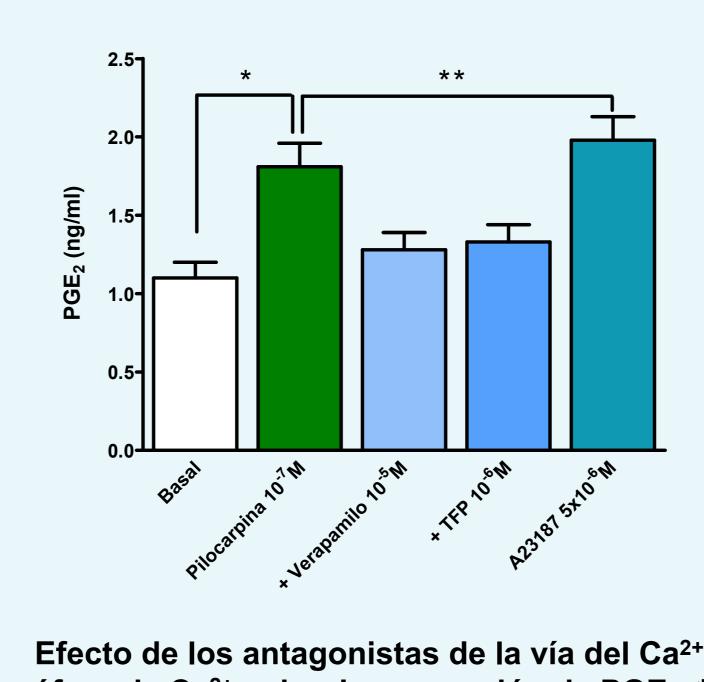


Efecto de los antagonistas específicos de subtipos de receptores muscarínicos sobre la generación de PGE₂ en presencia de los antagonista muscarínicos. *p<0.001 vs. Basal y **p<0.001 vs. Pilocarpina 1x10⁻⁷ M.

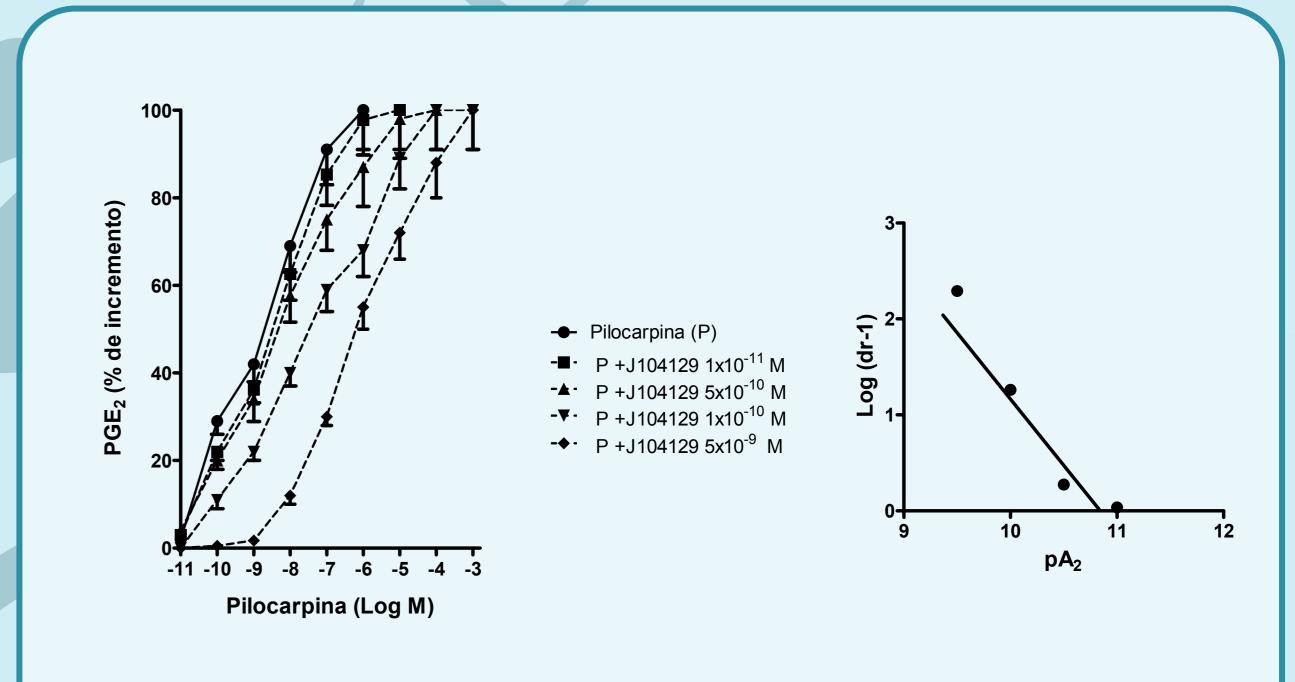
Vía de señalización



Efecto de los inhibidores específicos de la PLC, ONS, PLA₂ y COX en la generación de PGE₂. *p<0.001 vs. Basal y **p<0.001 vs. Pilocarpina 1x10⁻⁷ M.



Efecto de los antagonistas de la vía del Ca²⁺y del ionóforo de Ca²⁺ sobre la generación de PGE₂. *p<0.001 vs. Basal y **p<0.001 vs. Pilocarpina 1x10⁻⁷ M.



Curvas concentración respuesta de pilocarpina con distintas concentraciones de J104129. Gráfico de Schild calculado a partir de las curvas concentración respuesta.

Conclusión

Estos resultados demuestran la capacidad de la pilocarpina de unirse a los receptores muscarínicos colinérgicos del subtipo M₁ y M₃ activando a la PLC con la producción de IP₃ que al unirse a sus receptores en el retículo endoplasmático produce la liberación de Ca²⁺ al citoplasma. Esto promueve la entrada de Ca²⁺ desde el exterior. El Ca²⁺ se une a la calmodulina y este complejo activa a la ONS con la subsecuente aumento de la concentración de ON y activando a la PLA₂ que libera AA, sustrato de la COX, con el aumento de la generación de PGE₂.

La pilocarpina estimula a través de la unión a sus receptores la transducción de señales y de segundos mensajeros vinculados a la producción de PGE₂-Ca²⁺ dependiente en el músculo ciliar del cerdo.