

ORIGINALES

Efecto de la hormona antidiurética sobre la contractilidad de células mesangiales en cultivo de rata

G. de Arriba, A. Olivera, D. Rodríguez Puyol * y J. M. López Novoa

Laboratorio de Fisiopatología Renal. Fundación Jiménez Díaz. Madrid

* Servicio de Nefrología. Hospital de Alcalá de Henares

RESUMEN

Se estudió la acción de la hormona antidiurética (ADH) sobre la contracción de células mesangiales cultivadas de rata.

Los cultivos de células mesangiales se realizaron en condiciones estériles tras digestión de las estructuras glomerulares con colagenasa. Las células mesangiales se incubaron a temperatura ambiente y, con el objeto de evidenciar variaciones en su superficie de sección inducidas por ADH, se incubaron con dicha hormona y se realizaron microfotografías a lo largo del tiempo, que fueron analizadas por un sistema computarizado.

La ADH provocó una disminución progresiva del área de sección celular a lo largo del tiempo. Esta disminución fue también dependiente de la dosis, aumentando a medida que se incrementaba ésta. Su efecto parece estar mediado por un aumento de la concentración de calcio libre intracitosólico debido a dos mecanismos: liberación de calcio de las organelas intracitoplásmicas y entrada de calcio desde el exterior celular.

Estos resultados sugieren que la ADH puede modificar el filtrado glomerular induciendo cambios en la superficie de filtración y, por tanto, en el coeficiente de ultrafiltración (Kf).

Palabras clave: *Células mesangiales. Hormona antidiurética. Calcio libre intracitosólico.*

EFFECT OF ANTIDIURETIC HORMONE ON THE CONTRACTILITY OF CULTURED GLOMERULAR MESANGIAL CELLS

SUMMARY

We investigated the effect of Antidiuretic Hormone (ADH) on the contractility of cultured glomerular mesangial cells, and the possible involvement of calcium in this action.

Mesangial cells were cultured after treatment of glomeruli with collagenase. They were incubated at room temperature and several microphotographs were taken. Computer-assisted image analysis was employed to measure mesangial cell cross-sectional area.

Recibido: 27-VII-88.

En versión definitiva: 2-II-89.

Aceptado: 2-II-89.

Correspondencia: Dr. J. M. López Novoa.

Laboratorio de Fisiopatología Renal.

Fundación Jiménez Díaz.

Clínica de la Concepción.

Avda. Reyes Católicos, 2.

28040 Madrid.

ADH induced a decrease in cellular cross-sectional area with time related to the concentration employed. The mechanism of action of ADH seems to involve an increase in the intracellular free calcium, which is dependent on an increase in the liberation of this ion from intracellular stores and an increased entry of calcium from the extracellular space.

These results suggest that ADH could modify the glomerular filtration rate-through the contraction of mesangial cells by calcium-dependent mechanisms.

Key words: Cultured rat mesangial cells. Antidiuretic Hormone. Intracellular free calcium.

Introducción

La hormona antidiurética (ADH) se sintetiza en el hipotálamo y tiene una importancia trascendental en la regulación de la osmolaridad plasmática, actuando sobre el túbulo colector y modificando la excreción de agua libre por el riñón^{1, 2}.

Por otro lado, la ADH es capaz de modificar la filtración glomerular. Los experimentos de micropunción han demostrado que la infusión de ADH provoca un aumento de la diferencia de presión hidráulica transcápilar glomerular; este fenómeno está condicionado porque al producir un aumento de la permeabilidad tubular al agua, desciende la presión intratubular y, por tanto, también desciende la presión hidrostática en la cápsula de Bowman³. Sin embargo, la ADH, a pesar de aumentar la diferencia de presión hidráulica transcápilar glomerular, no condiciona un aumento del filtrado glomerular porque origina simultáneamente una disminución del coeficiente de ultrafiltración (Kf). No obstante, no está establecido si la ADH modifica la superficie de ultrafiltración (S) o la permeabilidad hidráulica efectiva (k), los dos componentes del Kf.

Las células mesangiales tienen receptores para ADH y se contraen en respuesta a esta hormona⁴, y esto sugiere que sus acciones glomerulares estén mediadas al menos en parte por sus efectos sobre estas células. En la actualidad se piensa que la contracción de las células mesangiales puede originar variaciones en la morfología y propiedades de los capilares glomerulares^{5, 6}. La hipótesis más aceptada es que la contracción de las células mesangiales puede originar una disminución de la superficie de filtración glomerular que conllevaría una reducción del Kf y, por tanto, una reducción del filtrado glomerular. No se conoce, sin embargo, si la contracción de estas células puede modificar la permeabilidad hidráulica efectiva (k).

Nuestro objetivo ha sido confirmar los efectos de la ADH sobre la contractilidad de las células mesangiales, estudiando a la vez los mecanismos intracelulares por los que actúa. Para ello se han utilizado

cultivos primarios de células mesangiales y se han analizado los cambios en la morfología de las mismas en respuesta a esta hormona.

Material y métodos

Cultivo de células mesangiales

Se utilizaron ratas Wistar macho de 150 g, alimentadas con una dieta estándar y agua *ad libitum*, que fueron obtenidas del animalario de la Fundación Jiménez Díaz.

El cultivo de células mesangiales se basa, en esencia, en el aislamiento de glomérulos de rata, que son colocados en cajas de cultivo después de haber sido sometidos a un tratamiento con colagenasa. Las células glomerulares crecen y se multiplican hacia la periferia del glomérulo, adhiriéndose a la caja de cultivo.

Para cada cultivo se utilizaron 10 ratas. Se utilizaron ratas jóvenes, ya que la capacidad mitótica de sus células renales es mayor que en las adultas. Después de ser anestesiadas con éter etílico, se realizó laparotomía media y se extrajeron los riñones, que fueron colocados en 20 ml de dulbecco estéril mantenido a 4°C (CINa, 137 mM; ClK, 2,6 mM; PO₄HNa₂, 8 mM; PO₄H₂K, 1,5 mM; glucosa, 5,6 mM; pH, 7,2), que contenía penicilina G sódica (50 U/ml, Laboratorios Level, S. A., Barcelona, España) y sulfato de estreptomycin (50 µg/ml, Antibióticos, S. A., Madrid, España).

Los pasos siguientes se realizaron en campana de flujo laminar vertical (Campana TC-48, Gelaire, Culti-tek. Flow Laboratories, Reino Unido) y con material estéril.

Los riñones fueron decapsulados y colocados en una placa de Petri con medio de Hanks sin calcio ni magnesio (Flow Laboratories, Woodcock Hill, Reino Unido). Con unas tijeras se aisló la corteza y se troceó en pequeños fragmentos, que se colocaron en otra placa de Petri con Hanks sin calcio ni magnesio.

Estos pedazos se pasaron a través de un primer ta-

miz de acero de 150 μm de diámetro de poro, recojiéndose la pasta que pasó a su través y colocándola posteriormente sobre un segundo tamiz de 50 μm de diámetro de poro. Esta pasta se lavó varias veces con una jeringa con medio de Hanks sin calcio ni magnesio y luego se recogió en un tubo de Falcon (Falcon Plastics, Oxnard, CA, USA) de 50 ml. Se centrifugó a 1.000 rpm durante un minuto y se descartó el sobrenadante.

Al sedimento se añadieron 3.000 U de colagenasa tipo IA (Sigma, St. Louis, Mo, USA) disueltas en 10 ml de dulbecco estéril y se incubó durante 30 minutos en un baño (Unitronic 320. P-Selecta, Barcelona, España) a 37°C con agitación continua. Al final de la incubación se añadieron 35 ml de medio de cultivo compuesto por RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium, Flow Laboratories) enriquecido con 10 % de suero de ternera fetal (Flow Laboratories) y que contenía L-glutamina (1 mM, Merck-Igoda, Barcelona, España), penicilina G sódica (0,66 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y sulfato de estreptomycin (60 $\mu\text{g}/\text{ml}$), tampinado con HEPES (ácido N-2-hidroxi-etil-piperazina-N'-2-etanosulfónico, Flow Laboratories) 20 mM. Este medio se había mantenido a 4°C con el fin de detener la acción enzimática de la colagenasa.

La suspensión de glomérulos y células se llevó posteriormente a un tamiz de 25 μm de diámetro de poro, lavando varias veces con medio de cultivo para eliminar la colagenasa. Se recuperó el material que había quedado en el tamiz y se colocó en un tubo de Falcon con medio de cultivo. Se centrifugó a 1.800 rpm durante 10 minutos, se descartó el sobrenadante y al sedimento se añadieron 50 ml de medio de cultivo. Después de resuspender el sedimento se tomaron alícuotas de 5 ml y se colocaron en cajas de cultivo (Tissue Culture Flask, Costar, Cambridge, Mass., USA), mantenidas horizontalmente y herméticamente cerradas en una estufa de cultivo a 37°C (Heraeus B-5060, Pacisa, Barcelona, España). En esta primera «siembra» se utilizaron 10 cajas. Con el fin de aumentar el rendimiento del método y aprovechar los glomérulos y células no adheridos al plástico después de las primeras 24 horas se realizó una «resiembra». Para ello se recogieron los sobrenadantes de las 10 cajas de cultivo en un tubo de Falcon. Se centrifugó a 1.800 rpm durante 10 minutos, se descartó el sobrenadante y se añadieron 50 ml de medio de cultivo al sedimento. Se tomaron alícuotas de 5 ml y se colocaron en otras 10 cajas de cultivo. El medio de cultivo se cambió cada 48 horas. Los glomérulos y células aisladas se adhieren al plástico de la caja de cultivo. Al cabo del tiempo, las células se multiplican alrededor de los glomérulos formando nidos celulares (fig. 1).

El aislamiento de un tipo celular está basado en la capacidad diferencial de crecimiento de las células, de modo que las epiteliales constituyen la mayoría

en los primeros seis días del cultivo y las mesangiales representan casi el 100 % de las células al día 18 de cultivo. Los experimentos se realizaron los días 21 y 22, no detectándose células epiteliales en las cajas de cultivo en este momento.

La identidad celular se estableció con criterios morfológicos, funcionales e histoquímicos. Con microscopía de contraste de fases, las células tienen un aspecto alargado y estrellado. Con microscopía electrónica de transmisión se observan microfilamentos en su citoplasma y un núcleo grande. Las células mesangiales se contraen en presencia de ionóforo A23187 y angiotensina II. Con técnicas histoquímicas se observó que contienen fibras de actomiosina y que carecen de factor VIII (a diferencia de las células endoteliales). Además, no tienen actividad de enzima convertidora de angiotensina II.

Incubación de las células mesangiales

Antes de cada experimento se vació el medio de cultivo y se realizó un lavado con 5 ml de tampón tris-glucosa (Tris, 20 mM; ClNa, 130 mM; ClK, 10 mM; acetato sódico, 10 mM; glucosa, 5 mM; pH 7,4). Luego se añadió de buevo este tampón con 2,5 mM de Cl_2Ca , manteniéndose durante 30 minutos, y posteriormente se añadieron el agonista y/o antagonista a estudiar.

Se realizó la observación directa de las células mesangiales en sus mismas cajas de cultivo a temperatura ambiente con un microscopio invertido de contraste de fases Olympus IMT2. Se hicieron microfotografías seriadas antes y después de añadir las sustancias a estudiar (una fotografía por cada tiempo), analizándose 10-15 células por fotografía.

Estudio de la respuesta de las células mesangiales en cultivo de rata frente a diferentes mediadores

En primer lugar se realizó un experimento dosis-respuesta, incubando las células mesangiales en presencia de dosis crecientes de ADH (rango entre 10^{-11} y 10^{-7} M), de modo que se utilizó una caja de cultivo para cada concentración. El tiempo de incubación fue de 30 minutos.

Posteriormente se realizó un experimento tiempo-respuesta, incubando las células mesangiales en presencia de ADH 10^{-9} M durante 60 minutos, realizándose microfotografías a los tiempos 0, 8, 15, 30, 45 y 60 minutos.

Finalmente, y con el objeto de estudiar la influencia del calcio en la acción de la ADH, las células mesangiales se preincubaron durante 10 minutos con el bloqueante de los canales lentos del calcio verapamil (10^{-5} M, Knoll Ibérica, Madrid, España), el antagonista de la liberación de calcio de las organelas intracitoplásmicas TMB-8 (10^{-4} M, Sigma, St. Louis, Mo, USA) o ambos. En los tres casos se añadió poste-



Fig. 1.—Células mesangiales en cultivo de rata.

riormente ADH 10^{-5} M y se analizaron las variaciones de la morfología de las células mesangiales a lo largo de 30 minutos.

Análisis de imágenes

El área de sección celular de las células mesangiales (ASC) se determinó sobre las fotografías, utilizando una técnica de planimetría computarizada en un equipo Cardio 80 (Kontron Medical, Munich, Alemania Federal). Con un lápiz óptico se marcaban sobre un panel magnético los contornos celulares y el ordenador calcula el área de sección de cada estructura a partir de su perímetro. Las áreas de sección reales se calcularon teniendo en cuenta la magnificación del microscopio y de las microfotografías. Las mediciones fueron realizadas por dos investigadores diferentes que no conocían las sustancias añadidas a las preparaciones.

Métodos estadístico

Los valores del ASC se expresan como porcentaje de variación respecto al valor inicial. Todos los resultados se expresan como media \pm error estándar de la media ($\bar{x} \pm$ EEM). La normalidad de las distribuciones estudiadas se comprobó con el test de Kolmogorov-Smirnov. Para analizar las variaciones del ASC a lo largo del tiempo se utilizó el test de la t de Student para muestras pareadas. Cuando se analizaron varios grupos de valores se utilizó un análisis de varianza de doble entrada, seguido de una prueba de comparación múltiple de medias (Scheffé).

En todos los casos se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas si la p era menor de 0,05.

Resultados

Los valores del ASC expresados en porcentajes siguen una distribución normal. Aplicando una t de Student para datos pareados, no encontramos diferencias significativas en ninguna incubación entre las mediciones realizadas por los dos observadores. Se consideró que una célula se contrajo cuando se redujo su ASC al cabo de 30 minutos de incubación más de un 10 % con respecto a la inicial.

Aunque una pequeña proporción de células (inferior al 10 %) se contraen espontáneamente, la incubación en condiciones control no modificó la forma de la mayoría de ellas y la media del ASC no cambió durante un período de 60 minutos, como se observa en la figura 2 y en la tabla I.

La adición de ADH 10^{-9} M indujo un descenso significativo del ASC desde el minuto 30 de incubación, que fue aumentando a lo largo del tiempo (fig. 2). Al cabo de 30 minutos se habían contraído el 66 % de las células. El efecto contráctil fue dependiente de la concentración de ADH presente en el medio de incubación, como se observa en la figura 3.

La incubación de las células con verapamil 10^{-5} M, TMB-8 10^{-4} M o ambos no modificó significativamente el ASC a lo largo de un período de incubación de 30 minutos, como se observa en la tabla I. El verapamil y el TMB-8 bloquearon parcialmente la reducción del ASC inducida por la ADH y la preincubación con ambos abolió completamente el efecto contráctil de la ADH (fig. 4). Cuando se preincubaron las células mesangiales con verapamil antes de añadir la ADH se contrajeron el 37 % de las células al cabo de 30 minutos; sin embargo, cuando se

Tabla I. Variaciones del ASC de células mesangiales de rata en cultivo, incubadas en condiciones controles y en presencia de los distintos moduladores farmacológicos utilizados sin añadir ADH.

	Tiempo (min.)		
	8	15	30
Control	102 ± 3,3	101 ± 6,3	100 ± 4,0
Verapamil	104 ± 4,3	105 ± 4,3	100 ± 5,9
TMB-8	104 ± 4,3	102	4,3
100 ± 5,9			
Verapamil + TMB-8 ...	101 ± 2,3	103 ± 2,5	101 ± 2,5

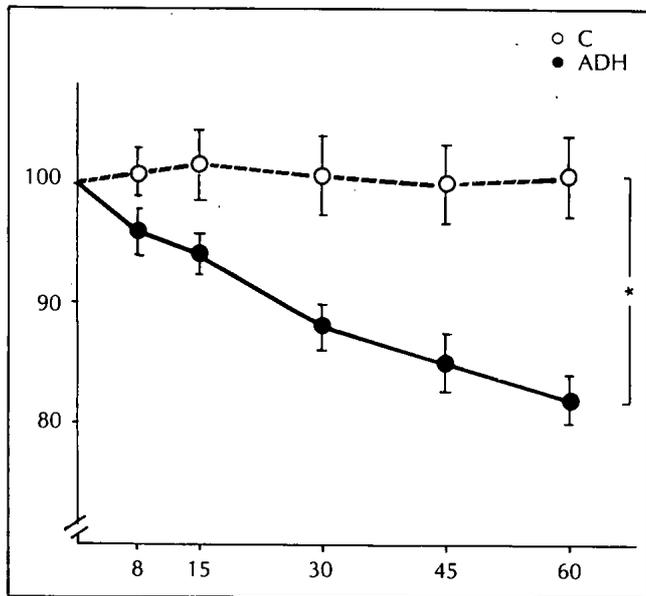


Fig. 2.—Efecto de la ADH sobre el ASC de células mesangiales de rata en cultivo. Las células se incubaron en condiciones control (círculos blancos) o en presencia de ADH 10^{-9} M (círculos negros) a lo largo del tiempo. Cada punto representa la media de cuatro cajas de cultivo, con un número medio de 10-15 células por caja. Las estrellas representan diferencias significativas del ASC de las células mesangiales respecto al valor basal. El asterisco representa la existencia de diferencias significativas entre las células incubadas en condiciones control y las incubadas en presencia de ADH.

preincubaron con TMB-8 se contrajeron el 46 %. Finalmente, cuando se preincubaron con verapamil y TMB-8 sólo se obtuvo una contracción en el 24 % de las células.

Discusión

Hemos obtenido cultivos primarios de células mesangiales de rata mediante una técnica similar a la de otros autores^{7, 8}, con el objeto de estudiar los efectos

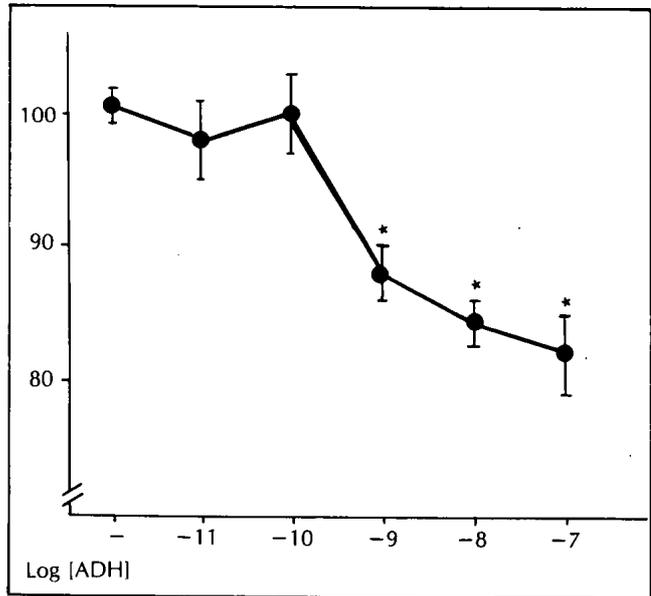


Fig. 3.—Efecto dosis-respuesta de la ADH sobre el ASC de células mesangiales de rata en cultivo. Las células se incubaron en presencia de varias concentraciones de ADH al cabo de 30 minutos. Cada punto representa la media de cuatro cajas de cultivo, con un número medio de 10-15 células por caja. Las estrellas representan la existencia de diferencias significativas entre los valores basales y los obtenidos tras 30 minutos de incubación.

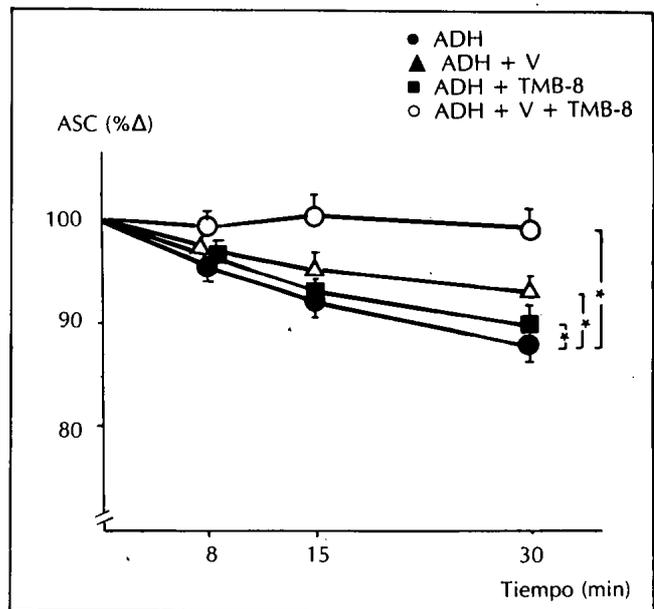


Fig. 4.—Efecto de los bloqueantes del calcio sobre la contracción de células mesangiales de rata inducida por la ADH. Las células se incubaron durante 10 minutos con TMB-8 (10^{-4} M, cuadrados), verapamil (10^{-5} M, triángulos) o ambos (círculos blancos), añadiéndose posteriormente ADH 10^{-9} M y realizándose microfotografías seriadas. También se muestran los efectos de la ADH 10^{-9} M sola (círculos negros). Cada punto representa la media de cuatro cajas de cultivo, con un número medio de 10-15 células por caja. Los asteriscos representan la existencia de diferencias significativas entre las curvas.

de la ADH sobre su morfología y conocer los mecanismos por los que actúa esta hormona.

Ya en 1980, Ausiello y cols. demostraron de un modo cualitativo que la ADH es capaz de provocar la contracción de células mesangiales cultivadas de rata⁴. Con nuestra metodología podemos analizar de un modo cuantitativo las variaciones en el ASC de las células mesangiales.

Hemos demostrado que la ADH 10^{-5} M provoca un descenso progresivo del ASC a lo largo del tiempo, que fue significativo desde el minuto 30 en relación con el ASC basal. Además, la reducción del ASC fue directamente proporcional a la concentración de ADH presente en el medio de incubación.

Aunque no está demostrado con absoluta certeza, cada vez existen más pruebas de que la contracción mesangial puede originar una reducción del diámetro glomerular y de la superficie del ovilleo capilar. Al menos teóricamente, la contracción de las células mesangiales puede tener varios efectos sobre los determinantes del filtrado glomerular. En primer lugar, podría originar una disminución de la superficie disponible para la filtración, a través de una disminución global de la superficie del ovilleo capilar o del estrangulamiento de parte de los capilares, que podría producir a su vez un descenso del Kf. En segundo lugar, podría condicionar una redistribución del flujo sanguíneo dentro del glomérulo, con reducción del mismo en algunos segmentos. Finalmente, aunque se ha estimado que la resistencia al flujo sanguíneo en los capilares es muy escasa⁹, la contracción mesangial podría provocar un aumento de la resistencia capilar y una disminución del flujo sanguíneo glomerular. En definitiva, la contracción de las células mesangiales, a través de un descenso del Kf y del flujo sanguíneo glomerular, produciría en última instancia un descenso del filtrado glomerular.

Los mecanismos por los que la ADH provoca una contracción de las células mesangiales no son bien conocidos, aunque nuestros resultados apoyan de un modo indirecto la intervención del calcio en este proceso. La contracción de las células mesangiales se bloqueó parcialmente tras la preincubación con verapamil o TMB-8; el descenso provocado por el verapamil fue significativamente mayor que el provocado por el TMB-8 (además, en el primer caso se contrajeron el 27 % de las células y en el segundo el 46 %). La preincubación con ambas sustancias prácticamente anuló la respuesta contráctil de la ADH y redujo el porcentaje de células contraídas (sólo se contrajeron el 21 %, a diferencia del 66 % con la ADH). Estos resultados sugieren que en la contracción de las células mesangiales inducida por la ADH interviene principalmente la entrada de calcio desde el exterior celular a través de los canales dependientes de receptor y, en menor medida, la liberación de calcio de las organelas intracitosólicas.

Se sabe que existen dos tipos de receptores celulares para ADH; el V_1 , que está acoplado al sistema mensajero del calcio, y el V_2 , que está acoplado a la adenilatociclasa¹⁰. Los receptores V_1 están presentes a diversos niveles en el riñón: las células musculares lisas de la pared de los vasos, las células intersticiales renomedulares y las células mesangiales. Se ha demostrado que la ADH no provoca un aumento de la actividad adenilatociclasa en células mesangiales¹¹ y que la contracción de las mismas se bloquea con un antagonista del receptor V_1 ¹², lo cual sugiere que los receptores en la célula mesangial son exclusivamente de tipo V_1 .

En la actualidad se pueden conocer las variaciones de calcio libre intracitosólico utilizando marcadores fluorescentes, sustancias capaces de penetrar en las células y de cambiar las características de la emisión de fluorescencia, dependiendo de la concentración de calcio presente en el medio. Bonventre y cols.¹¹, utilizando los marcadores Quin-2 y Fura-2, demostraron que la ADH aumenta la concentración de calcio intracelular en la célula mesangial y que este efecto se bloqueó con un antagonista del receptor V_1 . Este aumento se debió fundamentalmente a la liberación de calcio de las organelas intracitoplásmicas (ya que se produjo incluso cuando se redujo la concentración de calcio fuera de la célula) y, en menor medida, a la entrada de calcio desde el exterior celular. De modo similar, Hassid y cols.¹³, utilizando Fura-2, demostraron en cultivos primarios subperfundidos de células mesangiales que la ADH provocó un aumento transitorio e intenso del calcio intracelular seguido de un aumento secundario de menor cuantía. El aumento de la concentración de calcio libre intracelular fue dependiente de la concentración de ADH presente en el medio de incubación, siendo significativo a partir de concentraciones de ADH superiores a 10^{-5} M.

La aparente discrepancia entre nuestros hallazgos y los obtenidos con marcadores fluorescentes quizá esté relacionada con que estos últimos analizan modificaciones del calcio libre intracitosólico a muy corto plazo (la concentración máxima de calcio libre se alcanza en pocos segundos y persiste elevada durante dos minutos), y en nuestros experimentos el tiempo de incubación es mucho mayor y es posible que esta circunstancia no permita analizar adecuadamente las respuestas muy precoces de las células mesangiales a la acción de la ADH, aunque, sin embargo, permiten estudiar los mecanismos involucrados en el mantenimiento de la contracción a largo plazo.

En la actualidad se está empezando a conocer el nexo de unión entre las variaciones del calcio intracelular y los efectos celulares, como la contracción. De hecho se ha demostrado que la ADH pueda originar en distintos tipos celulares, como hepatocitos¹⁴, células musculares lisas vasculares¹⁵ y plaquetas¹⁶,

la degradación de polifosfoinosítidos de la membrana celular, que a su vez generan segundos mensajeros que condicionan las respuestas celulares. Troyer y cols.¹² han demostrado que la ADH 10^{-10} M provocó una degradación rápida (evidente en segundos) del fosfatidil inositol-4-5 bifosfato de la membrana celular, con un aumento en la concentración de diacil-glicerol (DG) y de inositol-fosfatos solubles en agua (concretamente el inositol 3-4-5 trifosfato o IP_3).

Los principales metabolitos derivados de la degradación de los polifosfoinosítidos son el IP_3 y el DG, que tienen funciones de mensajeros intracelulares de las respuestas. El IP_3 es soluble en agua y difunde desde la membrana plasmática al retículo endoplásmico, donde, probablemente a través de su unión con un receptor intracelular específico, condiciona la liberación de calcio de esta organela^{17, 18}. El calcio libre intracitosólico se une a la calmodulina, formando un complejo Ca-calmodulina que puede activar varias quinasas intracelulares, entre ellas la quinasa de la cadena ligera de la miosina, que fosforila la misma¹⁹. El DG permanece en la membrana plasmática y favorece la activación de la C-quinasa, que fosforila varias proteínas celulares de modo independiente a las quinasas y que activa el complejo Ca-calmodulina, incluyendo la quinasa de la cadena ligera de la miosina y la propia cadena ligera de la miosina²⁰.

La fosforilación de la cadena ligera de la miosina constituye un paso clave en la iniciación de las interacciones actina-miosina y, por tanto, en la contracción celular.

En definitiva, la ADH provoca la contracción de las células mesangiales por un mecanismo dependiente de calcio. La hipótesis más aceptada es que la unión de la ADH a los receptores V_1 , de las células mesangiales provoca una rápida degradación de los polifosfoinosítidos de la membrana celular, con generación de segundos mensajeros (fundamentalmente DG e IP_3), que provocan un aumento de la concentración de calcio intracitosólico y la activación de enzimas celulares claves para el proceso de la contracción.

Agradecimientos

Queremos agradecer la colaboración del Departamento de Fotografía de la Fundación Jiménez Díaz. Este trabajo se ha realizado con ayuda de las becas FIS (884/87) y CAICYT (590/84).

Bibliografía

1. Robertson GL: Regulation of vasopressin secretion. En *The Kidney: physiology and pathophysiology*. Eds. DW Seldin y G Giebish. Raven Press. Nueva York, pp. 869-884, 1985.
2. Zerbe RL y Robertson GL: Osmotic and nonosmotic regulation of thirst and vasopressin secretion. En *Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism*. Eds. MH Maxwell, CA Kleeman y RG Narins. McGraw-Hill. Nueva York, pp. 61-78, 1987.
3. Ichikawa I y Brenner BM: Evidence for glomerular actions of ADH and dibutiril cyclic AMP in the rat. *Am J Physiol* 203:F102-F117, 1977.
4. Ausiello DA, Kreisberg JJ, Roy C y Karnovsky MJ: Contraction of cultured rat glomerular mesangial cells after stimulation with angiotensin II and arginin-vasopressin. *J Clin Invest* 65:754-760, 1980.
5. Dworkin LD y Brenner BM: Biophysical basis of glomerular filtration. En *The kidney: physiology and pathophysiology*. Eds. DW Seldin y G Giebish. Raven Press. Nueva York, pp. 397-426, 1985.
6. Kreisberg JJ: Contractile properties of the glomerular mesangium. *Fed Proc* 42:3053-3057, 1983.
7. Kreisberg JJ y Karnovsky MJ: Glomerular cells in culture. *Kidney Int* 23:439-447, 1983.
8. Sraer J, Foidart J, Chansel D, Mahieu P y Ardaillou R: Prostaglandin synthesis by rat isolated glomeruli and glomerular cultured cells. *Int J Biochem* 12:203-207, 1980.
9. Ofstad J y Aukland K: Renal circulation. En *The kidney: physiology and pathophysiology*. Eds. DW Seldin y G Giebish. Raven Press. Nueva York, pp. 471-496, 1985.
10. Ausiello DA, Skorecki KL, Verkman LAS y Bonventre JV: Vasopressin signaling in kidney cells. *Kidney Int* 31:521-529, 1987.
11. Bonventre JV, Skorecki KL, Kreisberg JJ y Cheung JY: Vasopressin increases cytosolic free calcium concentration in glomerular mesangial cells. *Am J Physiol* 251:F94-F102, 1986.
12. Troyer DA, Kreisberg JJ, Schwertz DW y Venkatachalam MA: Effects of vasopressin on phosphoinositides and prostaglandin production in cultured glomerular mesangial cells. *Am J Physiol* 249:F139-F147, 1985.
13. Hassid A, Pitidiki N y Camero D: Effects of vasoactive peptides on cytosolic calcium in cultured mesangial cells. *Am J Physiol* 251:F1018-F1028, 1986.
14. Williamson JR, Cooper RH, Joseph SK y Thomas AP: Inositol triphosphate and diacylglycerol as intracellular second messengers in liver. *Am J Physiol* 248:C203-C216, 1985.
15. Nabika T, Velletri PA, Lovenberg W y Beaven MA: Increase in cytosolic calcium and phosphoinositide metabolism induced by angiotensin II and (Arg)-vasopressin in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 260:4661-4670, 1985.
16. Siess W, Stifel M, Binder H y Weber PC: Activation of V_1 receptors by vasopressin stimulates inositol phospholipid hydrolysis and arachidonate metabolism in human platelets. *Biochem J* 23:83-91, 1986.
17. Berridge MJ: Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers. *Biochem J* 220:345-360, 1984.
18. Exton JE: Calcium signaling in cells. Molecular mechanisms. *Kidney Int* 32:568-576, 1987.
19. England PJ: Intracellular calcium receptor mechanisms. *Br Med Bull* 42:375-383, 1986.
20. Abdel-Latif AA: Calcium-mobilizing receptors, polyphosphoinositides and the generation of second messengers. *Pharmacol Rev* 38:227-272, 1986.