

## EFECTO DE LA TROMBINA SOBRE LA SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE TROMBOSPONDINA POR LAS CÉLULAS ENDOTELIALES UMBILICALES HUMANAS EN CULTIVO

V. Martínez Sales<sup>a</sup>, V. Vila<sup>a</sup>, E. Reganon<sup>a</sup> y M. Ferrando<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación, <sup>b</sup>Dpto Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitario La Fe, Valencia.

La trombospondina-1 (TSP-1) es una proteína multifuncional que participa en la agregación plaquetar y en la angiogénesis. Se sintetiza por una gran variedad de tipos celulares, incluyendo las células endoteliales (CEs). La TSP se almacena en los gránulos alfa de las plaquetas, y es liberada por acción de la trombina, interviniendo en la agregación plaquetar. En la CE, la trombina produce expresión de diferentes proteínas como citoquinas y factores de crecimiento. Sin embargo, la modulación de la TSP por trombina en CE no está establecida.

**Objetivo:** Este estudio analizó el efecto de la trombina sobre la síntesis y liberación TSP en cultivos de CEs umbilicales humanas (HUVEC) y su regulación por distintos metabolitos de transducción de señal celular, el mevalonato (MVA), el farnesyl pirofosfato (FPP) y el geranylgeranyl pirofosfato (GGPP).

**Métodos:** El estudio se realizó en primer subcultivo de HUVEC sobre placas de 96 pocillos. Las CEs en confluencia se trataron con trombina a diferentes concentraciones (0-10 UI/ml) y distintos tiempos de incubación (0-24 h). La influencia de los metabolitos de señalización celular se valoró, por incubación de las CEs durante 24 h con MVA 300  $\mu$ M, o FPP 20  $\mu$ M, o GGPP 20  $\mu$ M. Las CEs incubadas con los distintos metabolitos se trataron posteriormente con 0,3 UI trombina/ml durante 3 h. El contenido de TSP intra y extra-celular se cuantificó por técnica de ELISA indirecto, usando un anticuerpo policlonal específico para TSP (Ab-8 NeoMarkers Lab Vision Corporation).

**Resultados:** La trombina aumentó significativamente la síntesis de TSP en HUVEC de forma concentración y tiempo-dependiente. El incremento máximo fue de 85% y se observó a concentraciones >0,3-10 UI/ml y a tiempo de incubación de 2-3 h. El efecto disminuyó significativamente a tiempos de incubación superiores a 5 h. El MVA no modificó significativamente la modulación de la TSP por trombina. Sin embargo, el FPP y el GGPP bloquearon significativamente el incremento de síntesis de TSP por acción de trombina. La disminución obtenida con FPP es del 74% y con GGPP del 82%, observándose valores de TSP intra y extracelular semejantes al obtenido en las CEs no tratadas con trombina.

**Conclusión:** La trombina incrementa la síntesis endotelial de TSP. El FPP y GGPP interfieren la inducción de la síntesis de TSP producida por trombina. Esta acción celular de la trombina puede representar una activación de la célula endotelial con implicación en los procesos de agregación plaquetar y angiogénesis.