

La vía del tromboxano A2 es determinante en el daño vascular renal durante la diabetes experimental

The thromboxane A2 pathway is a determinant in renal vascular damage during experimental diabetes

Castro-Moreno Patricia¹, Vargas-Reséndiz Dante Rubén², Ibarra-Barajas Maximiliano¹

¹ Unidad de Investigación en Biomedicina, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.

² Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

patricia.castro@iztacala.unam.mx¹

Resumen

El tromboxano A2 (TXA2) es un potente vasoconstrictor que regula el tono vascular. Durante la diabetes se incrementa la síntesis de TXA2 sistémico, sin embargo, el papel exacto de esta vía a nivel renal aún es desconocido. En este trabajo se analizó la participación de la sintasa tromboxano (TXAS) y el receptor a TXA2 (TP) en el daño vascular renal durante la diabetes. Se utilizó el modelo de diabetes inducido con estreptozotocina (STZ) (65 mg/kg) con evolución de 1 y 4 semanas. Al final de cada etapa, las ratas se colocaron en cajas metabólicas para recolectar orina de 24 h. Con los animales anestesiados, se extrajo la sangre, y mediante cirugía, se perfundieron y aislaron los riñones derechos para montarlos en un equipo tipo Langendorff donde se estimularon con I-BOP 10 μ M (agonista de TP) en ausencia y presencia de Ozagrel 0.1 μ M (inhibidor de TXAS), en este punto se recolectaron los perfusados renales. Los resultados mostraron en ratas diabéticas, incremento de masa renal desde la primera semana; a las 4 semanas se presenta proteinuria y mayor presión de perfusión dependiente de TP, la cual fue disminuida al inhibir la TXAS; la síntesis de TXA2 disminuyó en riñones diabéticos, incrementó por estimulación de TP y disminuyó con inhibición de TXAS. En conclusión, la diabetes no solo aumenta la respuesta contráctil ejercida por TP, sino que su activación induce la síntesis de más TXA2 que favorece la vasoconstricción, fenómeno que se evita con la inhibición de la TXAS.

Palabras clave: Tromboxano A2; Daño vascular renal; Diabetes.

Introducción

El TXA2 es un potente mediador de la contracción vascular que regula la hemodinamia y el remodelamiento vascular en el riñón (Nápoles Méndez & Nápoles García, 2012). Algunos investigadores, así como nuestro grupo de trabajo, han demostrado que la evolución de la diabetes modifica el equilibrio en la síntesis de prostanoïdes, favoreciendo la producción de TXA2 (Li et al., 2018). En el riñón, este proceso incrementa el tono vascular y ocasiona alteraciones en la señalización que comprometen su función (Okomura et al., 1999).

Los mecanismos involucrados en el incremento de la respuesta dependiente del TXA2 durante la diabetes no son del todo claros, sin embargo, se han relacionado con la sobreexpresión de la enzima TXAS (Bento & Pereira, 2011) o un aumento de la sensibilidad y reactividad de TP (Hinton et al., 2006). Con estos antecedentes, se planteó el objetivo de analizar la presión de perfusión renal inducida por estimulación de TP y la participación de la TXAS en la producción de TXA2 renal en un modelo de diabetes experimental.



Materiales y métodos

Se utilizaron ratas Wistar machos de 250 a 300 g de peso, la inducción de la diabetes se hizo por administración de una dosis única de STZ (Sigma-Aldrich®) de 65 mg/kg vía intraperitoneal (I.P.), los grupos controles recibieron el vehículo (amortiguador de citratos con pH de 4.5, 50 mM). Se permitió la libre evolución de la diabetes durante 1 y 4 semanas (desarrollo agudo y crónico), y sólo se incluyeron en el experimento a las ratas con valores de glucosa >200 mg/dl. Al finalizar los tiempos de evolución, las ratas se colocaron en cajas metabólicas para recolectar la orina de 24 h y evaluar el contenido de proteínas. Para determinar la concentración de creatinina plasmática como marcador de daño renal, los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico (60 mg/kg, I.P.) y se extrajo la sangre por punción de la aorta abdominal utilizando heparina como anticoagulante (500 µL/mL, Sigma-Aldrich®).

Mediante una laparotomía en planos, se perfundieron los riñones derechos, se extrajeron y se montaron en un sistema tipo Langendorff, donde se midió la presión de perfusión bajo un flujo constante de 10 mL/min (Uchino, 1991) con solución amortiguadora Krebs-Henseleit (Castro-Moreno *et al.*, 2012) y se analizó la respuesta contráctil dependiente

del receptor TP con I-Bop (10µM, Cayman Chemical®) en ausencia y presencia de Ozagrel, un inhibidor selectivo de la TXAS (0.1µM, Sigma-Aldrich®), reflejada como presión de perfusión renal. Previo y durante de la estimulación con I-Bop se recolectó el perfusado renal para la cuantificación de la concentración de TXB2 (metabolito estable de TXA2) con un kit de inmunoensayo (Cayman Chemical®). Finalmente, se retiró el exceso de líquido de los riñones y se pesaron para determinar la relación de masa renal/masa corporal.

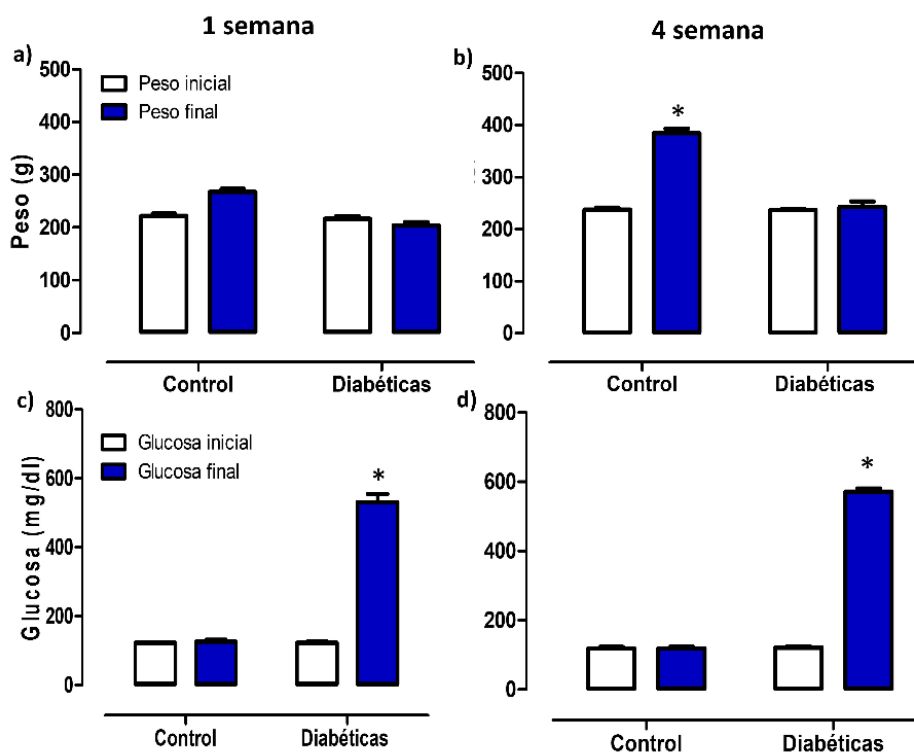


Figura 1. Mediciones de peso corporal y glucosa en sangre en ratas diabéticas. Peso corporal de ratas de a) 1 semana y b) 4 semanas post-inducción. Concentración de glucosa en sangre en ratas de c) 1 semana y d) 4 semanas post-inducción. Los datos representan el promedio ± error estándar de 6 a 8 animales por grupo. *p<0.05 vs parámetro inicial.
Fuente: Elaboración propia.



Resultados y discusión

Al finalizar los tiempos de estudio, las ratas diabéticas presentaron hiperglucemia persistente (> 500 mg/dl) (Figura 1 a y b), nula ganancia de peso corporal (Figura 1 c y d), incremento de la masa renal y presencia de proteínas en orina (Figura 2 a y c), lo que muestra el establecimiento del modelo de diabetes con trastornos renales progresivos (Palm et al., 2004).

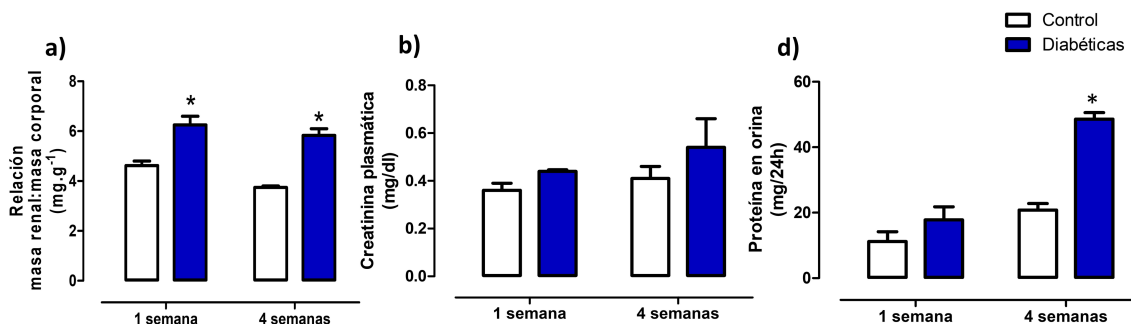


Figura 2. Marcadores de daño renal en ratas diabéticas. a) Relación masa renal/masa corporal, b) Creatinina plasmática, c) Proteína en orina de 24 h. Los datos representan el promedio ± error estándar de 6 a 8 animales por grupo. *p<0.05 vs control. Fuente: Elaboración propia.

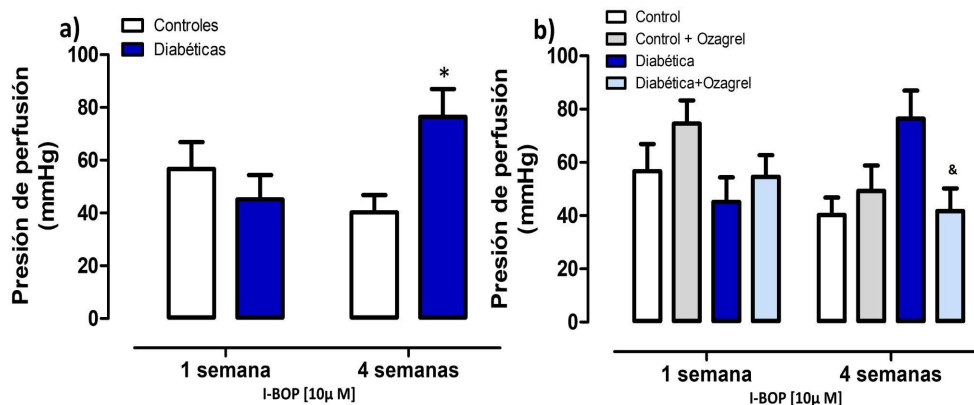


Figura 3. Presión de perfusión en riñones de ratas diabéticas. a) Presión de perfusión inducida por I-Bop. b) Efecto de la inhibición de la TXAS en la presión de perfusión inducida por I-Bop. Los datos representan el promedio ± error estándar de 6 a 8 animales por grupo. *p<0.05 vs control. &p<0.05 vs efecto del I-Bop. Fuente: Elaboración propia.

La presión de perfusión renal resultado de la estimulación de TP fue significativamente mayor en ratas diabéticas de 4 semanas, respecto a lo encontrado en una semana (Figura 3a), lo que sugiere desregulación de la vía de TXA2 e incremento de la sensibilidad de TP, ya sea por mecanismos relacionados al acoplamiento de la vía transduccional o a la captación de ligando (Shi & Vanhoutte, 2008). La inhibición de la TXAS disminuye la presión de perfusión al estimular con I-Bop los riñones de ratas de 4 semanas con diabetes, indicando que la activación de TP puede desencadenar la síntesis de más moléculas de TXAS (Muzaffar et al., 2011).

La concentración de TXA2 disminuye en condiciones diabéticas de ambas etapas (Tabla 1), la cual se ve favorecida por estimulación de TP con I-BOP (Muzaffar et al., 2011), lo que se relaciona con el incremento en la presión de perfusión (Figura 3). De manera interesante y contrario a lo esperado, tanto en grupos controles como en diabéticos continuó la síntesis de TXA2 después de la inhibición de la TXAS con Ozagrel, lo que sugiere una posible vía alterna en la producción de TXA2, abriendo la posibilidad de nuevas investigaciones.



Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que los efectos nocivos de la diabetes en el riñón dependen del tiempo en el que evoluciona la enfermedad, además, sugieren que el daño renal se relaciona con la síntesis deficiente de TXA2 en el órgano, lo que puede aumentar la sensibilidad de TP, y alterar la función renal; adicionalmente, hay indicios de una posible vía alterna para la producción de TXA2 independiente de la TXAS.

Tabla 1. Concentración renal de TXB2 en ratas con diabetes experimental.

Tromboxano B2 (pg/mL)	1 semana		4 semanas	
	Controles	Diabéticas	Controles	Diabéticas
Basal	43.8 ± 5	19.6 ± 2*	53.6 ± 11	28.4 ± 3
I-Bop	56 ± 10	42.5 ± 10 [§]	63.8 ± 8	80.5 ± 20 [§]
I-Bop + Ozagrel	26.82 ± 2 [#]	22.48 ± 2 [#]	20.3 ± 3 [#]	30.8 ± 9 [#]

Los datos representan la media ± E.E de 6 a 10 experimentos por grupo. Significancia estadística: *p<0,05 vs control, [§]p<0,05 vs basal, [#]p<0,05 vs I-BOP. Fuente: Elaboración propia.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología, y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM por los financiamientos otorgados (COMCYT FICDTEM-2021-058 y FESI-PAPCA 2021-2022-26 respectivamente) que permitieron la elaboración de este trabajo.

Referencias

- Bento, C. F., & Pereira, P. (2011). Regulation of hypoxia-inducible factor 1 and the loss of the cellular response to hypoxia in diabetes. *Diabetologia*, 54(8), 1946–1956. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2191-8>
- Castro-Moreno, P., Pardo, J. P., Hernández-Muñoz, R., López-Guerrero, J. J., Del Valle-Mondragón, L., Pastelín-Hernández, G., Ibarra-Barajas, M., & Villalobos-Molina, R. (2012). Captopril avoids hypertension, the increase in plasma angiotensin II but increases angiotensin 1-7 and angiotensin II-induced perfusion pressure in isolated kidney in SHR. *Autonomic & Autacoid Pharmacology*, 32(3–4), 61–69. <https://doi.org/10.1111/aap.12001>
- Hinton, M., Mellow, L., Halayko, A. J., Gutsol, A., & Dakshinamurti, S. (2006). Hypoxia induces hypersensitivity and hyperreactivity to thromboxane receptor agonist in neonatal pulmonary arterial myocytes. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 290(2), L375–L384. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00307.2005>
- Li, Y., Xia, W., Zhao, F., Wen, Z., Zhang, A., Huang, S., Jia, Z., & Zhang, Y. (2018). Prostaglandins in the pathogenesis of kidney diseases. *Oncotarget*, 9(41), 26586–26602. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25005>
- Nápoles Méndez, D., & Nápoles García, D. (2012). Hemostasia normal y coagulación intravascular diseminada en obstetricia. *Medisan*, 16(3), 401–428. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000300013



Muzaffar, S., Shukla, N., Massey, Y., Angelini, G. D., & Jeremy, J. Y. (2011). NADPH oxidase 1 mediates upregulation of thromboxane A2 synthase in human vascular smooth muscle cells: Inhibition with iloprost. *European Journal of Pharmacology*, 658(2–3), 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.02.020>

Okumura, M., Imanishi, M., Yamashita, T., Yamamura, Y., Kim, S., Iwao, H., Tanaka, S., & Fujii, S. (1999). Renal production of thromboxane and prostaglandins in a rat model of type 2 diabetes. *Life Sciences*, 66(5), 371–377. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(99\)00603-7](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(99)00603-7)

Palm, F., Orsäter, H., Hansell, P., Liss, P., & Carlsson, P.-O. (2004). Differentiating between effects of streptozotocin per se and subsequent hyperglycemia on renal function and metabolism in the streptozotocin-diabetic rat model: Renal Effects of Streptozotocin. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 20(6), 452–459. <https://doi.org/10.1002/dmrr.472>

Shi, Y., & Vanhoutte, P. M. (2008). Oxidative stress and COX cause hyper-responsiveness in vascular smooth muscle of the femoral artery from diabetic rats: Diabetes, ROS and smooth muscle hypersensitivity. *British Journal of Pharmacology*, 154(3), 639–651. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.110>

Uchino, K., Frohlich, E. D., Nishikimi, T., Isshiki, T., & Kardon, M. B. (1991). Spontaneously hypertensive rats demonstrate increased renal vascular alpha 1-adrenergic receptor responsiveness. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 260(5), R889–R893. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1991.260.5.r889>

