

Liraglutida, agonista del receptor de GLP-1, regula la expresión de los componentes hepáticos de RAS en crías de ratas sometidas perinatalmente a restricción calórica

Zainab Mastoor, Juan Fandiño, Laura Toba, Lucas C. González-Matías, Federico Mallo Ferrer, Yolanda Diz-Chaves.
CINBIO, Universidade de Vigo, 36310 Vigo, España.

E-mail: yolandadiz@uvigo.es

DOI: <https://doi.org/10.53435/funj.00862>

Recepción (primera versión): 17-Diciembre-2021

Aceptación: Abril-2022

Publicación online: N° Abril 2022

Resumen:

El sistema renina-angiotensina (RAS) es uno de los reguladores más potentes de diversos mecanismos fisiológicos. Está implicado en enfermedades graves como la enfermedad hepática crónica y la fibrosis hepática. La desnutrición materna tiene efectos a largo plazo sobre la desregulación metabólica de la descendencia. De hecho, la restricción alimentaria prenatal materna (MPFR) puede alterar los componentes del RAS, lo que da como resultado una alteración metabólica tanto en las madres como en las crías. Nuestro objetivo fue examinar el impacto de MPFR en los componentes de RAS en el hígado de crías macho y hembra y determinar cómo la liraglutida, administrada a ratas gestantes sometidas a restricción calórica, puede restaurar la actividad de RAS en el hígado. Nuestros resultados identificaron la presencia de componentes RAS en el hígado. Su expresión es diferente en crías macho y hembra. La liraglutida restauró

la expresión de los componentes de RAS (ACE, ACE2, Nln) y aumentó significativamente el nivel de ARNm de MasR en las crías macho con MPFR en comparación con el grupo control con restricción alimentaria, mientras que en las hembras no hubo ningún cambio. Además, la liraglutida disminuyó la expresión de los componentes RAS (ACE, ACE2, Nln, AT1R, MasR) en las crías macho de ratas gestantes alimentadas ad libitum, pero no modificó estos factores en las hembras. Como conclusión, la liraglutida modula la expresión de diferentes componentes de RAS y minimiza los efectos nocivos de la restricción alimentaria materna. La liraglutida restaura los niveles de ARNm de ACE2 y MasR en las crías machos con MPFR. La activación de la vía protectora ACE2/Ang(1-7)/MasR explica que RAS tiene efectos beneficiosos sobre el metabolismo hepático.

Palabras clave:

- Hígado • Liraglutida • Sistema-Renina-Angiotensina (RAS)
- Subnutrición-materna • GLP1R

Liraglutide, a GLP-1 receptor agonist, regulates the expression of the hepatic components of RAS in rat pups subjected to perinatal caloric restriction

Abstract:

The renin-angiotensin system (RAS) is one of the most potent regulator of physiological mechanisms related to diseases, including chronic liver disease and hepatic fibrosis. Maternal undernutrition has long term effects on metabolic dysregulation in offspring. In fact, maternal prenatal food restriction (MPFR) may alter the RAS components which results in metabolic disruption both in mothers and pups. Our aim was to examine the impact of MPFR on RAS components in the liver of male and female pups and to determine how liraglutide, administered to pregnant rats subjected to caloric restriction, can restore RAS activity in the liver. Our results identified the presence of RAS components in the liver. They were differentially expressed in male and female offsprings. Liraglutide restored the expression

of RAS components (ACE, ACE2, Nln) and significantly increased the mRNA level of MasR in MPFR male pups compared to the food restrictive vehicle, whereas in female pups there was no noticeable change. Furthermore, liraglutide decreases the expression of RAS components (ACE, ACE2, Nln, AT1R, MasR,) in males from ad libitum pregnant mothers, but did not modify these factors in females. As a conclusion, liraglutide modulates the expression of different components of RAS and minimizes the harmful effects of maternal food restriction. Liraglutide restores ACE2 and MasR mRNA levels in male MPFR offspring. Activation of the protective pathway ACE2/Ang(1-7)/MasR explains that RAS has beneficial effects on liver metabolism.

Keywords:

- Liver • Liraglutide • Sistema-Renina-Angiotensina (RAS)
- Maternal Perinatal Food Restriction (MPFR) • GLP1R

Introducción

En las últimas décadas, el descubrimiento de sistemas locales funcionales RAS, receptores más específicos y nuevas enzimas ha cambiado la importancia de RAS, revelando nuevas funciones para algunos de los productos intermedios, más allá de sus roles como sustratos a lo largo de la ruta clásica. El punto de vista clásico consiste en que la enzima convertidora de angiotensina (ECA), convierte la angiotensina I (AngI) en AngII, y la AngII media su efecto biológico mediante el receptor de angiotensina tipo 1 (AT1). Se estableció un segundo eje a través de ACE2/Ang(1-7)/Mas, cuyo punto final es el metabolito Ang(1-7) que ejerce la acción vasodilatadora, antiproliferativa y antiinflamatoria frente a AngII [1] (Figura 1).

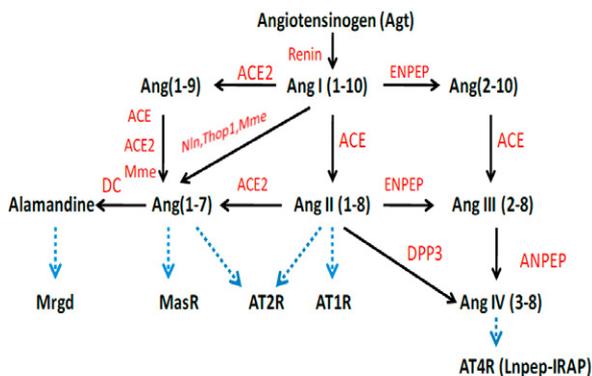


Figura 1. Componentes no clásicos RAS. El angiotensinógeno escindido por la renina y se forma una cascada enzimática de péptidos de angiotensina que se unen con diferentes receptores por los que median sus efectos

Las enfermedades hepáticas son una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo. El RAS se asocia con características patológicas de las enfermedades hepáticas crónicas, incluida la profibrosis, el estrés oxidativo y los marcadores inflamatorios [2]. La fibrosis hepática está relacionada con un aumento de AngII/AT1 y, por el contrario, antagonizada por el receptor de Ang(1-7)/Mas, que desempeña un papel protector [2]. En el hígado humano cirrótico y en la lesión hepática de rata, la activación de la rama del receptor ACE2 / Mas promueve la conversión hepática de angiotensina II en Ang- (1-7), lo que produce efectos beneficiosos en las enfermedades hepáticas y la regeneración [3]. La restricción calórica durante el período gestacional también está relacionada con la alteración de los componentes del RAS que provocan desregulación metabólica y enfermedades, además de otras complicaciones en las madres y en la descendencia [4]. En individuos desnutridos, los niveles de angiotensinógeno (AGT) y ACE aumentan en el tejido adiposo, lo que causa acumulación de lípidos [5].

La ingesta baja de proteínas a edades tempranas incrementa la actividad del RAS, asociada a cambios metabólicos, deterioro cardiovascular e hipertensión arterial durante la edad adulta [6].

Objetivo

Este estudio tuvo como objetivo dilucidar los efectos de la restricción alimentaria materna (MPFR) en la expresión hepática de varios componentes de RAS en crías macho y hembra, y determinar si la administración de liraglutida (un análogo del receptor de GLP-1) durante el período gestacional puede modular el sistema RAS en los descendientes.

Material y Métodos

Se asignaron aleatoriamente ratas Sprague-Dawley preñadas a grupos de restricción alimentaria al 50% (MPFR) o control ad libitum (CT) en el día 12 de la gestación (GD12). Desde GD14 hasta el parto, las ratas con restricción (FR) y CT preñadas se trataron con liraglutida (100 µg / kg / 12 horas, sc.) o con vehículo (solución salina). En el día 21 posnatal y antes del destete, se realizó la eutanasia a 16 machos y hembras (CT y FR). Se analizaron en el hígado, mediante PCR en tiempo real, los niveles de expresión de ARNm de angiotensinógeno (AGT), interleucina-6 (IL-6), ACE, ACE2, neprilisina (Mme), neurolisina (Nln), timetoligopeptidada (Thop1), AT1R, MasR, leucil y cistinil aminopeptidasa (Lnpeptidasa) y el miembro D del receptor acoplado a proteína G relacionado con Mas (MRGPRD). Los datos se representan como la media ± SEM (el error estándar de la media). La significación estadística se determinó mediante análisis de la varianza. Las diferencias fueron estadísticamente significativas siguiendo la convención de $p \leq 0,05$.

Resultados

1. Efecto de la liraglutida sobre el angiotensinógeno en crías de ratas macho y hembra de MPFR:

Los niveles de expresión de ARNm de la AGT se evaluó en crías tanto macho como hembra. La restricción calórica perinatal reduce los niveles de angiotensinógeno solo en el hígado de ratas macho. La liraglutida no tuvo ningún efecto en la expresión de ARNm de AGT. (Figura 2)

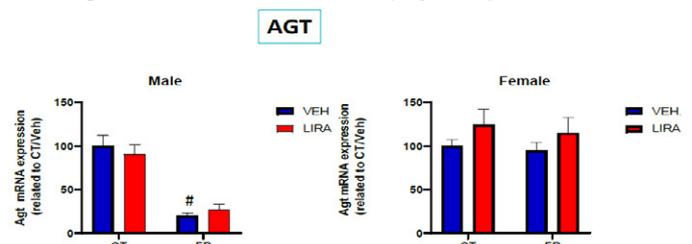


Figura 2. Niveles de expresión de ARNm de AGT en el hígado de crías macho y hembra. Los datos son la media ± SEM, # $p \leq 0,05$; Test de comparación múltiple de Tukey

2. Efecto de la liraglutida sobre las enzimas RAS en crías de ratas macho y hembra MPFR:

Se estudió los niveles de expresión de ARNm de ACE, ACE-2, Nln, Mme, Thop1 en el hígado de crías macho y hembra. MPFR disminuyó los niveles de ARNm de ACE, ACE2 y Nln en machos. En hembras, MPFR disminuyó la expresión de ARNm de Nln sin tener ningún efecto en los niveles de ARNm de ACE o ACE2. La liraglutida disminuyó los niveles de expresión de ARNm de ACE, ACE2 y Nln en los machos control, sin afectar a los machos MPFR y también incrementó los niveles de expresión de ARNm de Thop1 en las hembras control y de ACE en las hembras MPFR. No se observó ningún efecto de MPFR o liraglutida en los niveles de ARNm de Mme (Figura 3)

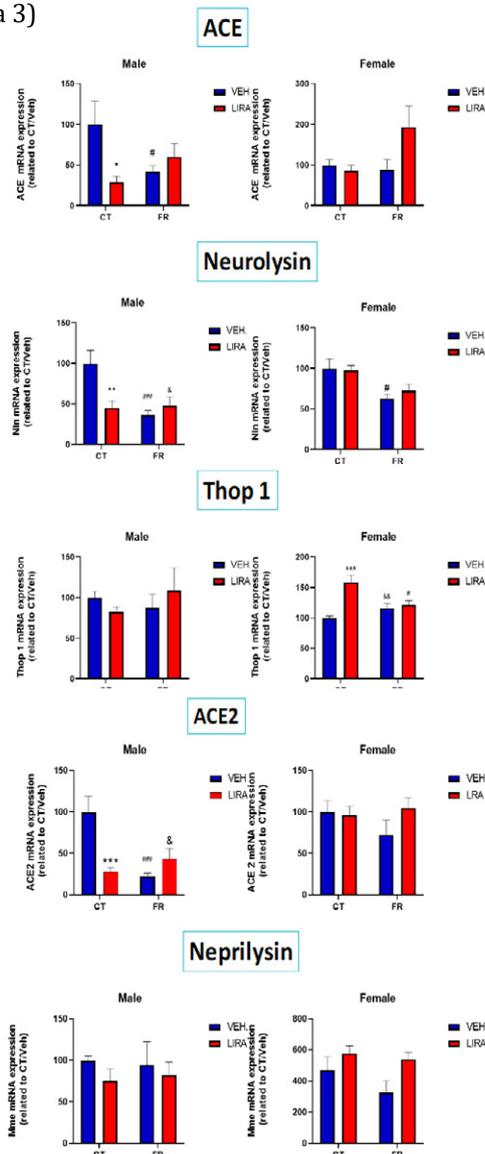


Figura 3. Niveles de expresión de ARNm de enzimas RAS en el hígado de crías macho y hembra. Se estudiaron la enzima convertidora de angiotensina (ACE), la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), Neurolisina (Nln), Neprilisina (Mme), Thimet oligopeptidasa (Thope 1). Los datos son la media + SEM, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ comparado veh vs lir; # $p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.01$, comparado CT vs FR; Test de comparación múltiple de Tukey

3. Efecto de la liraglutida sobre los receptores RAS en crías macho y hembra MPFR:

La expresión reducida de ARNm de MasR inducida por MPFR se restauró mediante el tratamiento con liraglutida en el hígado de las crías macho. No se observaron efectos en las hembras, ni por MPFR ni por el tratamiento con liraglutida. Además, no se observó ningún efecto de MPFR ni de liraglutida en los niveles de expresión de ARNm de AT1R, Lnpep, Mrgprd en el hígado de crías tanto macho como hembra (Figura 4).

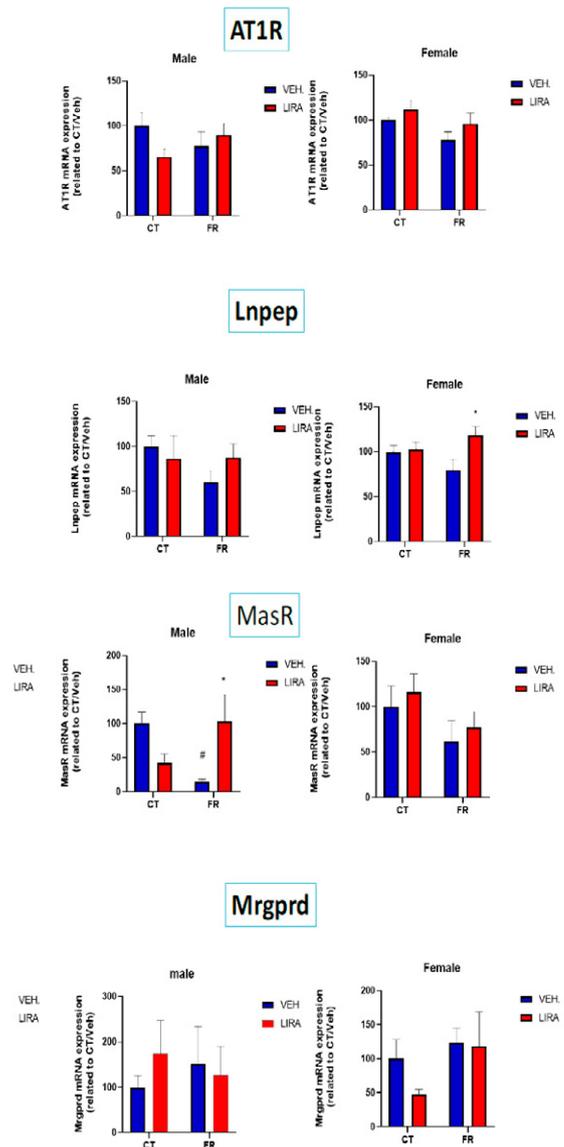


Figura 4. Niveles de expresión de ARNm de receptores RAS en el hígado de crías macho y hembra. Se estudiaron el receptor de angiotensina I (AT1R), el receptor Mas, la leucil y cistinil aminopeptidasa (Lnpep), el miembro D del receptor acoplado a proteína G relacionado con Mas (Mrgprd). Los datos son la media ± SEM, * $p \leq 0.05$, comparado veh vs lir; # $p \leq 0.05$, comparado CT vs FR; Test de comparación múltiple de Tukey

En las crías macho MPFR, la reducción de angiotensinógeno, ACE y ACE2, junto con la marcada reducción de MasR, desequilibra la actividad de RAS facilitando la acción de AngII y aboliendo la de Ang(1-7) en el hígado. Este desequilibrio aumenta la susceptibilidad a la inflamación y a la fibrosis hepática en los machos. La liraglutida puede contribuir a mejorar la respuesta a Ang(1-7) aumentando la expresión de MasR.

Discusión

La restricción dietética durante la gestación puede provocar esteatohepatitis / enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) [5]. Las características patológicas de las enfermedades hepáticas crónicas incluyen aumento de la fibrosis, estrés oxidativo y marcadores inflamatorios. El RAS está asociado con todos estos procesos [2]. El RAS se activa comúnmente en las enfermedades hepáticas crónicas y la AII es un factor crítico para promover la fibrosis [2]. Estudios previos han demostrado que RAS está relacionado con NAFLD y también indican que la inhibición del eje ACE/AngII/AT1R o la activación del eje ACE2/Ang(1-7)/Mas pueden representar objetivos efectivos para el tratamiento de NAFLD [3]. El análogo de GLP-1 liraglutida modula ambos ejes de RAS, especialmente aumentando los niveles de expresión de ACE-2, que a su vez conducirá a la reducción de la AngII circulante y al marcado aumento de Ang(1-7) [3]. El agonista del receptor de GLP-1 también minimiza los efectos nocivos de la restricción alimentaria materna [7,8].

Existe evidencia de RAS local completo en el hígado de ratones normales o cancerosos [2, 3, 9]. En nuestro estudio hemos demostrado la expresión de ARNm de componentes clave y enzimas de RAS en el hígado de crías de madres con restricción alimentaria. Además, el MPFR altera la expresión del ARNm de algunas de estas moléculas, reduciendo el angiotensinógeno, ACE, ACE2 y neurolisina en las crías macho y aumentando Thop1 y reduciendo la neurolisina en las hembras. MPFR también, reduce los niveles de expresión de MasR en los machos sin tener ningún efecto en las hembras. La liraglutida es capaz de modular los niveles de expresión de RAS en el pulmón, especialmente estimulando la expresión de ACE-2 [8,10], que conduce a un aumento de la producción de Ang(1-7), activando el MasR [8,10]. Ang(1-7) reduce la fibrosis pulmonar y la hipertensión arterial pulmonar y activa las vías que promueven la homeostasis pulmonar [10]. El agonista del receptor de GLP-1 también minimiza los efectos nocivos de la restricción alimentaria materna [8]. Otros estudios han demostrado que la activación de GLP-1R podría desempeñar un papel en la regulación de los

componentes de RAS en diferentes órganos. En este sentido, el tratamiento con liraglutida durante la gestación es capaz de restaurar la expresión de MasR en el hígado de las crías macho. En los machos de madres control tratadas con liraglutida, se redujeron los niveles de ARNm de ACE, ACE2 y de neurolisina. Basándonos en los hallazgos, podemos concluir que la liraglutida restaura los niveles de expresión de ARNm de ACE2/MasR en crías macho con restricción de ingesta prenatal y modula las actividades de los componentes del RAS. La elevación del componente protector de RAS, ACE2/Ang(1-7)/MasR, muestra que las crías macho son más propensas a los efectos beneficiosos. La liraglutida modula los niveles de expresión de diferentes componentes de RAS y minimiza los efectos nocivos de la restricción alimentaria materna, mostrando un claro dimorfismo sexual. La regulación de RAS con liraglutida puede ser una estrategia diana que sirva como régimen terapéutico para prevenir y tratar la enfermedad hepática crónica, así como la lesión hepática aguda.

Agradecimientos

Financiación de la Xunta de Galicia (Centro Singular de Investigación de Galicia 2016-2019, ED431G / 02; Modalidad Grupos con Potencial Crecimiento GPC2015 / 022, Grupos Estratégicos CN2012 / 273 y de la Unión Europea (Fondo Europeo de Desarrollo Regional-FEDER)

Bibliografía

1. Robson Augusto SS, Walkyria OS, Alzamora AC, Daisy Motta-Santos, Alenina N, Bader M, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7). *Physiol Rev* 2018;98(1):505-553.
2. Simões E Silva, A. C., Miranda AS, Rocha NP, Teixeira AL. Renin angiotensin system in liver diseases: Friend or foe? *World J Gastroenterol* 2017 May 21;23(19):3396-3406.
3. Yang M, Ma X, Xuan X, Deng H, Chen Q, Yuan L. Liraglutide Attenuates Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice by Regulating the Local Renin-Angiotensin System. *Front Pharmacol* 2020 Apr 8;11:432.
4. Pinheiro TA, Barcala-Jorge AS, Andrade JMO, Pinheiro TA, Ferreira ECN, Crespo TS, et al. Obesity and malnutrition similarly alter the renin-angiotensin system and inflammation in mice and human adipose. *J Nutr Biochem* 2017 Oct;48:74-82.
5. Sarli PM, Manousopoulou A, Efthymiou E, Zouridis A, Potiris A, Pervanidou P, et al. Liver Proteome Profile of Growth Restricted and Appropriately Grown Newborn Wistar Rats Associated With Maternal Undernutrition. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021 May 28;12:684220.

6. Silva FC, de Menezes RC, Chianca DA, Jr. The implication of protein malnutrition on cardiovascular control systems in rats. *Front Physiol* 2015 Sep 2;6:246.
7. Fernanda C.Silva , Rodrigo C.deMenezes and Deoclécio A. Chianca Jr. The implication of protein malnutrition on cardiovascular control systems in rats. 2015: *Front. Physiol.* 6:246.. doi: 10.3389/fphys.2015.00246.
8. (8) Fandiño J, Vaz AA, Toba L, Romani-Pérez M, González-Matías L, Mallo F, et al. Liraglutide Enhances the Activity of the ACE-2/Ang(1-7)/Mas Receptor Pathway in Lungs of Male Pups from Food-Restricted Mothers and Prevents the Reduction of SP-A. *Int J Endocrinol* 2018 Dec 2;2018:6920620.
9. Moreira de Macêdo S, Guimarães TA, Feltenberger JD, Sousa Santos SH. The role of renin-angiotensin system modulation on treatment and prevention of liver diseases. *Peptides* 2014 Dec;62:189-196.
10. Fandiño J, Toba L, González-Matías LC, Diz-Chaves Y, Mallo F. GLP-1 receptor agonist ameliorates experimental lung fibrosis. *Sci Rep* 2020 Oct 22;10(1):18091-1.

©2022 seco-seedo. Publicado por bmi-journal. Todos los derechos reservados.

