

ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR ANTIAPOPTOSIS EPOR/CD131 EN CÉLULAS DE RIÑÓN DE HUMANO EN HIPOXIA

Daniela Gómez-Ramírez^a, Benjamín León-Mancilla^b, Ana L. Márquez-Aguirre^a, Hugo Esquivel-Solís^a

^a Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Biotecnología Médica y Farmacéutica, Guadalajara, Jalisco, C.P. 44270. hesquivel@ciatej.mx

^b Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Medicina, Ciudad de México, C.P. 04510.

Palabras clave: hipoxia, receptor EPOR/CD131, GSK-3 β .

Introducción. La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es una pérdida gradual de nefronas causada principalmente por hiperglicemia diabética e hipertensión, generando estrés e inflamación del riñón y eventualmente la fibrosis del órgano. Todo esto provoca disminución de flujo de oxígeno hacia el riñón (hipoxia) causando la apoptosis de las células, contribuyendo en la progresión de la ERC (1). La activación del receptor EPOR/CD131 por eritropoyetina inhibe la apoptosis de neuronas y cardiomiocitos dañados (2). Sin embargo, se desconoce si este receptor se expresa en células de riñón y si es funcional durante la hipoxia, pudiendo tener un papel protector.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión del receptor EPOR/CD131 y la activación de cinasas efectoras en la inhibición de la apoptosis causada por hipoxia en células tubulares embrionarias de riñón humano.

Metodología. Las células tubulares embrionarias de riñón humano (HEK-293) se cultivaron en 20% de O₂/5% de CO₂ durante 24 horas (normoxia) y en 94% de N₂/5% de CO₂ y 1% de O₂ por 24 horas (hipoxia) en una cámara de modular, en presencia y ausencia de eritropoyetina recombinante humana (rhEPO). Como controles de muerte celular independiente de hipoxia, las células HEK-293 se mantuvieron en H₂O₂ 2mM por 2 h, en completa ausencia de O₂ (anoxia) por 24 h, en cisplatino 80 μ M por 24 h y cloruro de cobalto (CoCl₂) 200 μ M por 24 h como control positivo de hipoxia. La viabilidad celular se cuantificó por medio de MTT y la apoptosis se observó por electroforesis de ADN en agarosa. La co-expresión del receptor EPOR/CD131 se evidenció por inmunoprecipitación y Western Blot y su activación por fosfo-Western Blot de AKT y GSK-3 β , en presencia o ausencia del inhibidor de PI3K/Akt (LY24900). Los datos se procesaron con ANOVA.

Resultados. La expresión de EPOR está ausente en las células HEK-293 en normoxia, pero se sobreexpresa notablemente durante la hipoxia y ligeramente en los demás tratamientos de muerte celular. Mientras que CD131 se sobreexpresa en todos los tratamientos

excepto en normoxia (fig. 1a). Se comprobó que ambas proteínas forman el heteroreceptor EPOR/CD131 durante la hipoxia (fig. 1b). La estimulación de las células HEK-293 con rhEPO en hipoxia incrementa la fosforilación de GSK-3 β en el residuo Ser9 (fig.2), la forma inactiva de la cinasa responsable del inicio de la apoptosis (3). La inhibición de Akt evita la fosforilación de GSK-3 β en Ser9, confirmando que es un evento dependiente de la activación del receptor EPOR/CD131 durante la hipoxia.

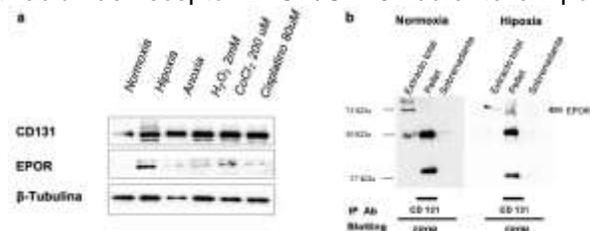


Fig. 1. Expresión de EPOR y CD131 y coimmunoprecipitación de EPOR en células tubulares embrionarias de riñón humano en distintas condiciones. a) en hipoxia se observó una sobre-expresión de EPOR y CD131, β -tubulina se utilizó como control de carga. b) en la colP el pellet de las células en hipoxia se observa la detección de EPOR, en normoxia no fue detectable.

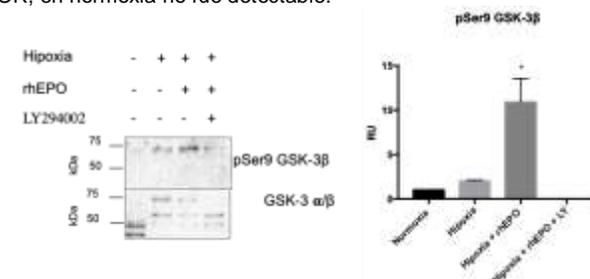


Fig. 2. Expresión de pSer9 GSK-3 β en células tubulares de riñón humano en normoxia e hipoxia en presencia y ausencia de rhEPO e inhibidor LY294002. (Se muestra el promedio \pm SEM, **P < .05).

Conclusiones. El receptor EPOR/CD131 se expresa en las células tubulares embrionarias de riñón humano durante la hipoxia e inactiva a GSK-3 β para inhibir la apoptosis.

Agradecimientos. A CONACYT por la beca asignada a la Biól. Exp. Daniela Gómez para sus estudios de Maestría. **Bibliografía.**

1. Fu Q, Colgan S & Simon C (2016) *Clin Med Res* 14(1): 15-39.
2. Imamura *et al.* (2012) *Clin Exp Nephrol* 16(6): 852-862.
3. Maurer U *et al.* (2014) *J Cell Sci* 2014 (127): 1369-1378.