

Histopatología y concentración de TBARS del músculo esquelético en ratas recién nacidas expuestas a hiperoxia y el efecto protector de la taurina

L. M. Rojas^{a*}, P. Centeno^a, E. Zapata^b, Á. Camacho^a, O. Castro^a

^a Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente “Dra. Susan Tai”, Cumaná, Venezuela.

^b Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Cumaná, Venezuela.

*Autor de Correspondencia, E-mail: lmarinarojas@gmail.com

Recibido: 25-01-2022 Aceptado: 16-02-2022

Publicado: 31-03-2022

RESUMEN

Con este estudio se pretende evaluar si la taurina (un aminoácido antioxidante) es capaz de proteger el músculo esquelético de ratas en desarrollo de los efectos citotóxicos de la hiperoxia postnatal. Para esto, dos grupos de ratas recién nacidas de la cepa Sprague-Dawley fueron expuestas a hiperoxia junto con su madre, desde su nacimiento hasta el día P6, P9 y P12. La madre de uno de los grupos tomó solución de taurina al 3% como agua de beber y la madre del otro grupo tomó solo agua. Dos grupos similares, pero sin hiperoxia fueron utilizados como controles. Para los análisis bioquímicos e histológicos se utilizó el músculo gastrocnemio de los miembros traseros. El estrés oxidativo se evaluó mediante la técnica de análisis de sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS), por métodos espectrofotométricos, mientras que para la histología se aplicó la técnica de embebido en plástico. La concentración de TBARS en el grupo hiperoxia fue significativamente superior a la de los demás grupos comparados. El grupo hiperoxia también presentó daños estructurales y los más notables fueron el edema intersticial y deformación en los fascículos de fibras musculares. En el grupo hiperoxia-taurina disminuyeron significativamente los niveles de TBARS y no se presentaron problemas de edema ni malformaciones en los fascículos musculares. En conjunto, los resultados arrojaron que la taurina controla el estrés oxidativo y protege la estructura del músculo esquelético durante la hiperoxia postnatal.

Palabras claves: Músculo gastrocnemio, estrés oxidativo, taurina, TBARS, prematuro.

Histopathology, TBARS concentration and total protein level of skeletal muscle in newborn rats exposed to hyperoxia and the protective effect of taurine

ABSTRACT

This study aims to evaluate whether taurine (an antioxidant amino acid) is able to protect developing rat skeletal muscle from the cytotoxic effects of postnatal hyperoxia. For this, two groups of newborn Sprague-Dawley strain rats were exposed to hyperoxia together with their mother, from birth until day P6, P9 and P12. The mother of one group drank 3% taurine solution as drinking water and the mother of the other group only drank water. Two similar groups, but without hyperoxia, were used as controls. For biochemical and histological analysis, the gastrocnemius muscle of the hind limbs was utilised. Oxidative stress was evaluated using the thiobarbituric acid reactive substance analysis technique (TBARS), by spectrophotometric methods, while the plastic embedding technique was applied for histology. The concentration of TBARS in the hyperoxia group was significantly higher than that of the other groups compared. The hyperoxia group also presented structural damage and the most notable were interstitial edema and deformation in the fascicles of muscle fibers. In the hyperoxia-aurine group, TBARS levels decreased and structurally there were no problems of edema and malformations in the muscle. Overall, the results showed that taurine controls oxidative stress and protects skeletal muscle structure during postnatal hyperoxia.

Keywords: Gastrocnemius muscle; oxidative stress; taurine; TBARS; prematurity.

INTRODUCCIÓN

Cada año nacen en el mundo unos 15 millones de bebés antes de llegar a término y aproximadamente un millón de ellos debido a complicaciones en el alumbramiento [1].

Muchos de los bebés prematuros que sobreviven padecen algún tipo de discapacidad de por vida, en particular, las relacionadas con el aprendizaje, problemas visuales y auditivos [2, 3].

En las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) algunos neonatos que nacen prematuros reciben oxigenoterapia con la finalidad de evitar las manifestaciones de hipoxia que con frecuencia presentan los prematuros al nacer y esto sucede porque los pulmones nacen inmaduros y los alvéolos, al no haberse desarrollado completamente, son rígidos y menos numerosos que los de un neonato a término [4]. Durante la hiperoxia se aplica una alta presión de oxígeno para que éste difunda pasivamente desde los alvéolos hacia el torrente sanguíneo sin que el neonato emplee mucha energía al inhalar el aire [5]. No obstante, aunque la hiperoxia es necesaria para el desarrollo de los pulmones, ésta puede provocar una alta producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres (RL) que pueden causar estrés oxidativo en los tejidos [6].

El estrés oxidativo se origina a partir del desbalance entre las ERO y RL generados en los procesos metabólicos del organismo y la deficiencia de los sistemas antioxidantes [7]. El estrés oxidativo incontrolado podría conllevar a consecuencias patológicas [8].

Antioxidantes no enzimáticos como la vitamina E y la taurina añadidos a las dietas de caninos y felinos, han demostrado disminuir el estrés oxidativo en enfermedades como diabetes mellitus, asma, insuficiencia renal crónica, hepatitis, colitis, dermatitis atópica y artritis [9].

Particularmente, la taurina (ácido 2-aminoetanosulfónico) es el principal aminoácido intracelular libre de la mayoría de los tejidos de los mamíferos. Se encuentra presente en cantidades relativamente altas en la retina y los tejidos musculares esquelético y cardíaco [10]. La taurina deriva del metabolismo de la cisteína y es sintetizada en el hígado a través de varias etapas enzimáticas, por consiguiente, se considera no esencial o condicionalmente esencial [11].

El mecanismo de daño celular de los RL se atribuye a los procesos de peroxidación lipídica, que son muy destructivos debido a que alteran la función metabólica de la célula [12]. Uno de los marcadores de estrés oxidativo

más frecuentemente utilizado para estimar la peroxidación lipídica es el TBARS (sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico). Como producto final de la peroxidación lipídica predomina el malondialdehído (MDA) [13].

Se analizaron marcadores de estrés oxidativo en el cerebro de ratas sometidas a diferentes modelos de estrés (estrés por inmovilización, estrés por frío e inmovilización-estrés por frío). Se encontró un incremento en la concentración en el TBARS y aumento en los niveles de las proteínas antioxidantes (SOD, CAT, GPx), sugiriendo que el estrés oxidativo aumenta la peroxidación de lípidos y estimula el sistema antioxidante [14].

Tomando en cuenta el daño que puede causar la hiperoxia postnatal al recién nacido prematuro, con este estudio se pretende investigar el impacto de la hiperoxia sobre la concentración de TBARS y la estructura del músculo esquelético utilizando la rata Sprague-Dawley como modelo experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley, provenientes del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Diseño experimental.

Hembras y machos de la rata Sprague-Dawley se aparearon en una jaula (2 hembras por cada macho) durante 15 días; luego, las hembras fueron separadas y se esperó a cumplirse el período de gestación en las ratas durante 21 días. Posteriormente, en una incubadora hecha de plexiglás transparente, se colocaron por separado 4 grupos de ratas. Cada grupo estuvo compuesto por 10 crías con su respectiva madre. A dos de los grupos se les suministró taurina al 3% (Sigma) como agua de beber de la madre, en los dos grupos restantes la madre tomó solo agua. Desde el día de su nacimiento, las ratas fueron expuestas diariamente a $80 \pm 5\%$ de O_2 con tres

interrupciones de 21% de O₂. Cada interrupción tuvo una duración de 30 min. [15].

El nivel de oxígeno en la incubadora se mantuvo utilizando un medidor de oxígeno ambiental (7820 Oxygen Monitoring System), el cual fue conectado a la incubadora y calibrado diariamente.

El régimen de hiperoxia se mantuvo desde el día del nacimiento de las ratas, hasta los 6, 9 y 12 días de desarrollo postnatal (P6, P9 y P12). Luego de finalizado cada uno de los periodos de oxigenación, las ratas fueron sacrificadas por decapitación e inmediatamente se les extrajo el músculo gastrocnemio de los miembros traseros para la realización de los análisis bioquímicos e histológicos. Se utilizaron 6 especímenes por cada tratamiento y por cada período experimental. Paralelamente, se estableció el grupo control, el cual se mantuvo en una caja de plexiglás transparente similar a la incubadora, pero en lugar de una tapa plástica, tenía una tela metálica que permitió que las ratas estuviesen en un ambiente normóxico (21% O₂). Con el fin de evitar las complicaciones pulmonares que con frecuencia son señaladas en las ratas adultas expuestas a la hiperoxia, las madres de las crías expuestas a hiperoxia que tomaban taurina al 3% se alternaron cada día con las madres controles que tomaban taurina al 3%, igual con las que tomaban solo agua. A las ratas madres se les suministró alimento y agua ad libitum.

Análisis de la peroxidación lipídica.

La peroxidación lipídica fue estimada por el método de análisis de sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS), el cual se fundamenta en la cuantificación colorimétrica de uno de los principales productos de la peroxidación de lípidos, el malonaldehído (MDA) [16].

Para la determinación de TBARS, 0,10 gr de músculo se homogenizó en 2 ml de buffer fosfato de potasio 100 mmol/L, pH 7,40 y seguidamente se centrifugó a 2 200 g por 15 min a 4°C. Se tomaron 250 µl del sobrenadante y se colocaron en baño de María a 37°C por 10 min; luego,

fueron retirados e incubados en hielo, adicionando a cada tubo 250 µl de solución cromógena contentiva de ácido tricloroacético al 12,5% y ácido clorhídrico 1 mol/L, para detener la reacción. Luego, a cada tubo se le añadió 500 µl de ácido tiobarbitúrico al 1%, se agitaron y se colocaron en baño de María a 90°C con agitación constante por una hora. Posteriormente, fueron retirados e incubados nuevamente en hielo. Seguidamente, fueron centrifugados a 500 g por 10 min a 4°C; finalmente el sobrenadante fue llevado al espectrofotómetro para su medición a 532 nm.

La concentración de MDA se calculó usando un coeficiente de extinción de $11,56 \times 10^{-5}$ nmol/L cm⁻¹. Los resultados fueron expresados en µmol de TBARS por gramos de masa húmeda (gmh) y fueron sometidos a un estudio estadístico al 95% de confiabilidad, utilizando un análisis de varianza (ANOVA) simple con la finalidad de comparar los valores medios de los grupos control, control-aurina, hiperoxia e hiperoxia-aurina. Para el contraste *a posteriori* se utilizó la prueba Duncan [17].

Análisis histológico.

Para los análisis histológicos del músculo se utilizaron 4 especímenes por grupo experimental. Seguidamente a la eutanasia (día postnatal 12), el músculo gastrocnemio de los miembros traseros fue extraído y fijado completo en glutaraldehído al 4% en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,4, 4°C. Inmediatamente, bajo una lupa estereoscópica y en contacto permanente con solución fijadora de glutaraldehído, se tomó el músculo, se seccionó en pedazos de aproximadamente 2 mm², los cuales se colocaron nuevamente en solución fijadora (3h/4°C). Posteriormente, las muestras fueron lavadas en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,4 (10 min). Luego se fijaron en solución de tetraóxido de osmio al 1%, en buffer fosfato 0,1 M pH 7,4 (3 h).

Seguidamente, se lavaron con agua destilada (10 min), para luego ser deshidratadas en etanol de concentraciones crecientes (50, 70, 80, 90, 95 y 100% por 5 min c/u). Se

infiltró con óxido de propileno (10 min). Luego en una mezcla 3:1 óxido de propileno-epón (1 h), seguido de otra mezcla 1:3 óxido de propileno-epón. Finalmente, las muestras se incluyeron en epón 812, en moldes de silicona y polimerizadas en una estufa a 60°C (48 h) [18, 19].

Seguidamente, se realizaron cortes semifinos (0,7 µm) con cuchilla de diamante, en un ultramicrotomo marca Leica UM-UC6. Los cortes se colorearon con azul de toluidina (1%) para ser examinados en un fotomicroscopio Axioskop FL-40 marca Zeiss con cámara digital incorporada y con la ayuda de un software analizador de imágenes AxioVision LE Cannon Modul, Carl Zeiss, Germany [18, 19].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio hemos evaluado los efectos de la taurina como posible antioxidante para combatir el estrés oxidativo causado por la hiperoxia postnatal en el músculo gastrocnemio de ratas recién nacidas.

Peroxidación de Lípidos.

Los resultados de la concentración de TBARS en el músculo de las ratas bajo los diferentes tratamientos se presentan en la figura 1.

En el día P6, la concentración media de TBARS en el grupo hiperoxia ($0,952 \pm 0,091 \mu\text{mol/gmh}$) fue significativamente más alta comparada con los grupos control ($0,519 \pm 0,082 \mu\text{mol/gmh}$), control-aurina ($0,521 \pm 0,093 \mu\text{mol/gmh}$) e hiperoxia-aurina ($0,545 \pm 0,119 \mu\text{mol/gmh}$) no observándose diferencias entre los últimos tres grupos ($F_s=30,17$; $p<0,001$). En el día P9, los resultados mantuvieron un patrón similar a P6. La concentración media de TBARS en el grupo hiperoxia ($0,757 \pm 0,099 \mu\text{mol/gmh}$) fue significativamente más alta comparada con los grupos control ($0,452 \pm 0,105 \mu\text{mol/gmh}$), control-aurina ($0,446 \pm 0,058 \mu\text{mol/gmh}$) e hiperoxia-aurina ($0,531 \pm 0,056 \mu\text{mol/gmh}$) ($F_s=15,76$; $p<0,001$). En el día P12, se observaron diferencias

significativas entre la concentración media de TBARS de todos los grupos comparados, siendo la concentración mayor la de hiperoxia ($0,683 \pm 0,060 \mu\text{mol/gmh}$) seguida de los grupos hiperoxia-aurina ($0,579 \pm 0,072 \mu\text{mol/gmh}$), control-aurina ($0,483 \pm 0,051 \mu\text{mol/gmh}$) y control ($0,397 \pm 0,056 \mu\text{mol/gmh}$) ($F_s=22,47$; $p<0,001$).

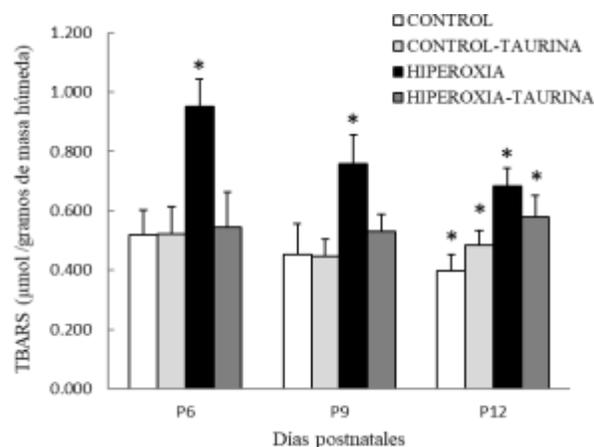


Fig. 1. Comparación de la concentración de TBARS en el músculo esquelético de las ratas en los grupos: control, control-aurina, hiperoxia, e hiperoxia-aurina en los días postnatales P6, P9 y P12.

* *Indican diferencias intragrupos.*

La hiperoxia causó estrés oxidativo evidenciado por las altas concentraciones de TBARS observados los días postnatales P6 y P9. En el proceso de producción de ATP las mitocondrias generan RL y entre ellos, uno de los más dañinos es el anión superóxido O_2^- . En condiciones normales, las mitocondrias producen en su interior la enzima superóxido dismutasa (SOD) que convierte el anión superóxido en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que es una especie reactiva de oxígeno (ERO) que destruye las membranas. El H_2O_2 es atacado por los antioxidantes glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa (CAT) para convertirlo en agua y oxígeno [20]. No obstante, bajo condiciones de hiperoxia los RL y las ERO que producen las mitocondrias se generan en tal cantidad que sobrepasa la capacidad del sistema antioxidante para eliminarlos causando daño a diversas macromoléculas. Las estructuras ricas en ácidos grasos

polinsaturados (lípidos) como el sistema de membrana de las células se ven afectadas, causando edema y muerte celular por necrosis y/o apoptosis [21].

En el grupo hiperoxia-aurina se observó un descenso de la peroxidación lipídica indicado por la disminución de las concentraciones de TBARS. La disminución del estrés oxidativo se debió, posiblemente, al efecto antioxidante de la aurina.

En un trabajo similar al presente estudio, se analizó la peroxidación lipídica en el músculo cardíaco de ratas expuestas a hiperoxia y el efecto antioxidante de la aurina [22]. En contraste con el grupo control, la concentración de TBARS del grupo hiperoxia aumentó 55% en el día postnatal P6, 93% en P9 y 98% en P12. Según los autores, el estrés oxidativo fue el responsable de la extraordinaria peroxidación lipídica, el descenso de los tioles y el daño estructural observado en el músculo cardíaco. En ese mismo estudio, la ingesta de aurina descendió la concentración de TBARS con respecto al grupo hiperoxia en P6 (40%), P9 (80%) y P12 (80%). Estudios de la aurina como antioxidante en la diabetes han dado como resultado la disminución de los radicales libres en situación de estrés oxidativo [23].

Uno de los mecanismos de la acción protectora de la aurina fue demostrado en los neutrófilos que son parte del sistema inmune del organismo. Tras una lesión tisular puede ocurrir un proceso de inflamación, es decir, una compleja reacción de carácter vascular que da lugar a la acumulación de líquido (edema) y leucocitos en los tejidos extravasculares [24]. En los neutrófilos, durante el estallido respiratorio, las mitocondrias producen el anión superóxido (O_2^-) que es dismutado a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la acción de la enzima superóxido dismutasa. Cuando el neutrófilo captura una bacteria, virus u hongo éste produce mieloperoxidasa (MPO) y toma cloro del medio exterior para producir ácido hipocloroso (HClO) que destruye las bacterias. En condiciones de una infección aguda, se produce mucho

HClO que puede escaparse del neutrófilo y causar daño oxidativo a las membranas celulares. La aurina tiene la capacidad de unirse al HClO para formar la aurina cloramina (TauCl) que es un compuesto inocuo menos dañino que el HClO [25]. La TauCl se libera de los neutrófilos activados después de su apoptosis e inhibe la producción de mediadores inflamatorios como anión superóxido, óxido nítrico, factor de necrosis tumoral α , interleucinas y prostaglandinas en células inflamatorias de tejidos inflamatorios. Además, la TauCl aumenta las expresiones de proteínas antioxidantes, como la hemo oxigenasa, peroxiredoxina, tioredoxina, glutatión peroxidasa y catalasa en macrófagos [26].

Se analizó el efecto de la aurina sobre la enfermedad de hígado graso y los resultados mostraron que la aurina reduce el nivel de lípidos para aliviar la esteatosis hepática, aumenta las enzimas y sustancias antioxidantes para mejorar la defensa antioxidante, regula las vías de señalización relacionadas con la inflamación para reducir los factores proinflamatorios y la respuesta inflamatoria [27].

La aurina está presente en la leche materna y hay pruebas de la utilidad potencial de la adición de aurina en la fórmula, especialmente en el caso de los nacimientos prematuros [28]. El nivel adecuado de aurina es fundamental para el desarrollo del músculo esquelético; se ha demostrado que el nivel de aurina en el músculo aumenta durante el primer mes de vida postnatal de las ratas [29].

Análisis Histológico.

En la figura 2 se observan cortes histológicos del músculo esquelético de las ratas a nivel de los fascículos musculares de los grupos control, hiperoxia e hiperoxia-aurina.

A diferencia del grupo control (figura 2A), las miofibrillas del grupo hiperoxia (figura 2B), presentan un cierto grado de desorden dentro del fascículo. La pérdida de la integridad estructural de los fascículos se debió,

posiblemente, a problemas de edema tanto en el endomisio como en el tejido intersticial que rodea el fascículo muscular. Este daño estructural mantiene los fascículos separados comparados con el control. Se evidencia una mayor población de fibroblastos con diferentes formas y en diferentes direcciones en el tejido intersticial. En el grupo hiperoxia-taurina (figura 2C), las miofibrillas están mejor arregladas dentro del fascículo y

éstos últimos mantienen una morfología similar a la del grupo control. En contraste con el grupo hiperoxia el tejido intersticial está menos edematizado, esto se evidencia con la disminución de la distancia entre los fascículos. Al igual que en el grupo control, se observa una escasa población de fibroblastos de forma fusiformes.

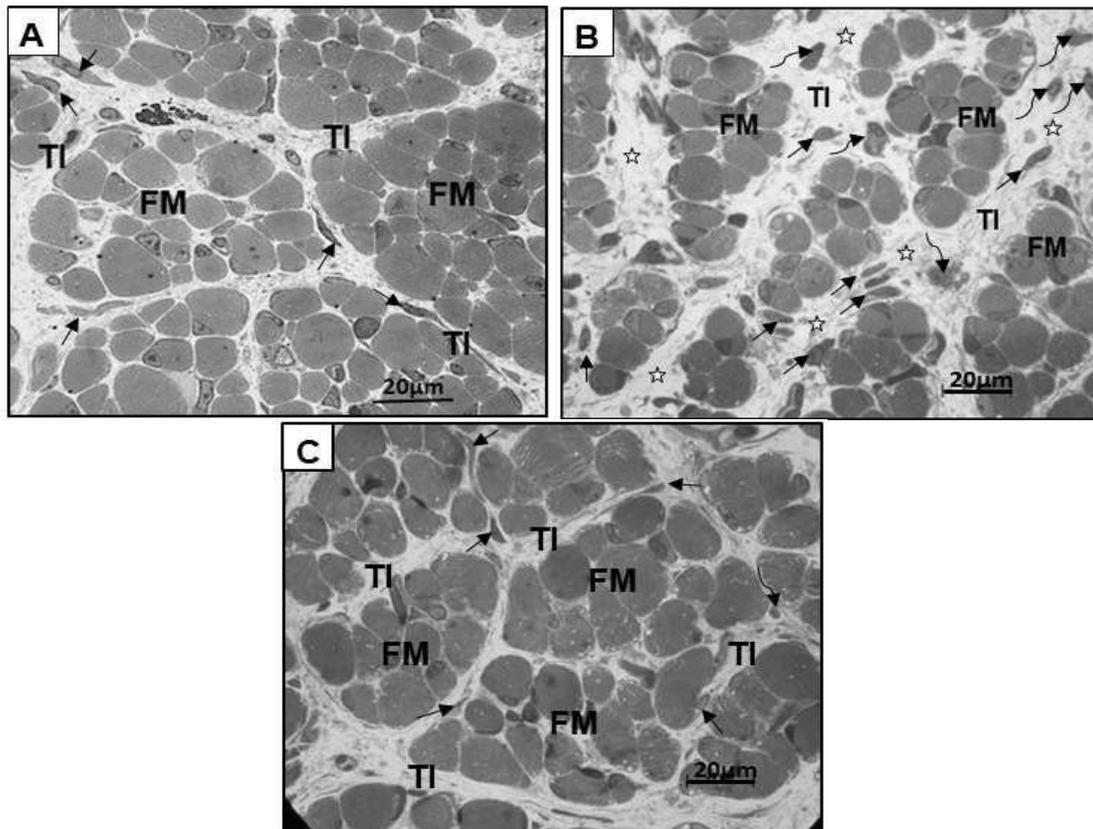


Fig. 2. Cortes transversales del músculo esquelético a nivel de los fascículos de fibras musculares de ratas recién nacidas en los grupos: A) Control, B) Hiperoxia y C) Hiperoxia-Taurina. En el grupo hiperoxia (B) se observa un proceso de edema en el endomisio y en el tejido intersticial de los fascículos musculares y pérdida de la integridad estructural de los fascículos.

FM: Fascículo muscular; Estrella: Edema intersticial; TI: Tejido intersticial; Flecha recta: fibroblasto en reposo; Flecha curva: fibroblasto activado.

En la figura 3 se observan cortes histológicos del músculo esquelético de las ratas a nivel de los capilares sanguíneos de los grupos control, hiperoxia e hiperoxia-taurina.

En el grupo control (figura 3A), se observan capilares permeables con una luz amplia por donde circulan

abundantes eritrocitos. En el tejido intersticial los fibroblastos tienen forma fusiforme y están bien arreglados alrededor de los vasos dándole estabilidad a los capilares. En el grupo hiperoxia (figura 3B), los capilares se observan obliterados y en sus zonas circundantes el tejido intersticial se nota edematizado. Se

observa la disminución de la población de fibroblastos en el tejido intersticial. En el grupo hiperoxia-taurina (figura 3C), los capilares se evidencian parcialmente

obliterados no observándose procesos de edematización del tejido intersticial. Los fibroblastos son abundantes pero normales.

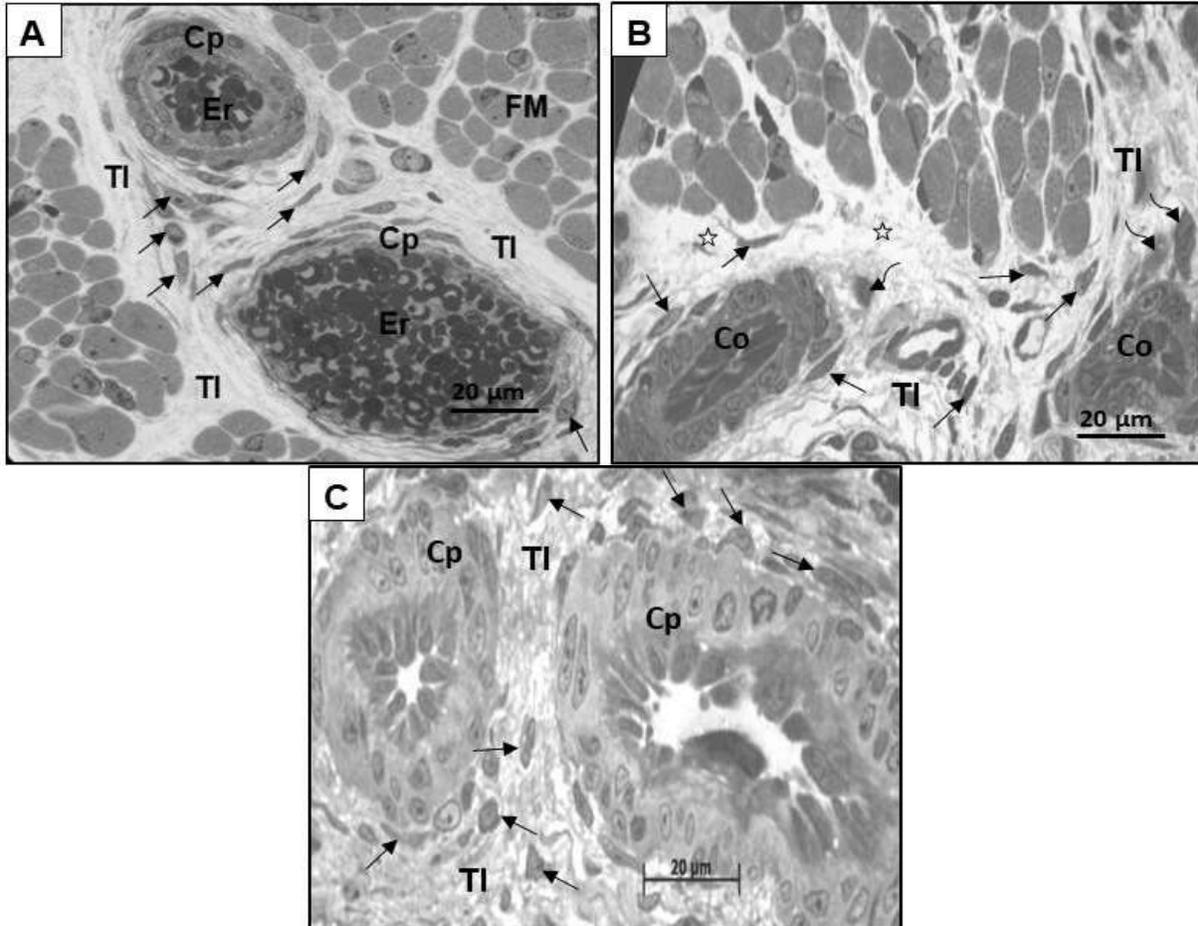


Fig. 3. Cortes transversales del músculo esquelético a nivel de los capilares sanguíneos de ratas recién nacidas en los grupos: A) Control, B) Hiperoxia y C) Hiperoxia-Taurina. En el grupo hiperoxia se observa un proceso de edema en el tejido intersticial de los capilares sanguíneos y obliteración de los capilares.

Cp: Capilar permeable; *Co:* Capilar obliterado; *Estrella:* Edema intersticial; *TI:* Tejido intersticial; *Flecha recta:* fibroblasto en reposo; *Flecha curva:* fibroblasto activado.

En la figura 4 se observan cortes histológicos del músculo esquelético de las ratas a nivel de los fascículos nerviosos de los grupos control, hiperoxia e hiperoxia-taurina. En el músculo del grupo control (figura 4A) se observan fascículos nerviosos conformados por numerosas fibras nerviosas (axones) empaquetadas de manera circular por una capa de colágeno denso producido por los fibroblastos. Los fibroblastos también producen el colágeno laxo que constituye la estructura

del tejido intersticial. En el grupo hiperoxia (figura 4B) se observan fascículos nerviosos con pérdida de su integridad estructural y ausencia de la capa de colágeno denso. Alrededor del fascículo se evidencia un proceso de edema caracterizado por la separación de las fibras de colágeno y un desorden en la disposición normal de los fibroblastos. En el grupo hiperoxia-taurina (figura 4C), los fibroblastos están más ordenados alrededor del fascículo nervioso, aunque la capa de colágeno no está

tan desarrollada comparada con el grupo control. En contraste con el grupo hiperoxia, el tejido intersticial del

grupo hiperoxia-taurina se observa bien estructurado y sin problemas de edema.

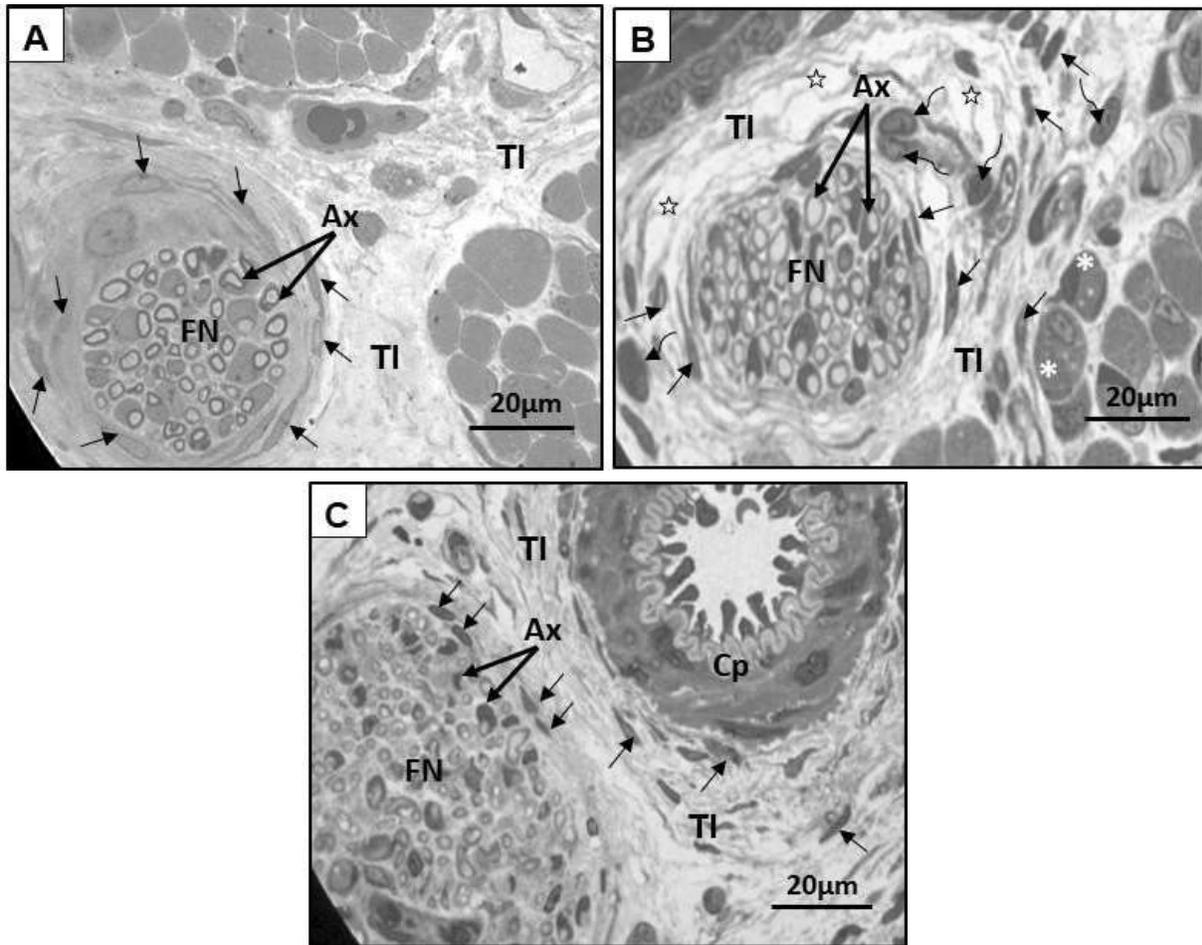


Fig. 4. Cortes transversales del músculo esquelético a nivel de los fascículos de fibras nerviosas de ratas recién nacidas en los grupos: A) Control, B) Hiperoxia y C) Hiperoxia-Taurina. En el grupo hiperoxia se observa un proceso de edema en el tejido intersticial de los fascículos de fibras nerviosas.

FM: Fascículo de fibras nerviosas; *TI:* Tejido intersticial; *Ax:* axón; *Estrella:* Edema intersticial; *Flecha recta:* fibroblasto en reposo; *Flecha curva:* fibroblasto activado; *Cp:* Capilar permeable.

En el grupo hiperoxia, el músculo gastrocnemio presenta procesos de edema tanto a nivel de los fascículos musculares como a nivel de los capilares sanguíneos. El exceso de filtración capilar es la causa más común de edema extracelular [30]. El edema puede ocurrir como consecuencia de una lesión en el endotelio capilar, que incrementa su permeabilidad y permite la transferencia de proteínas al compartimiento intersticial. La lesión a la pared capilar pudo haber sido ocasionada por la desestabilización de las membranas del endotelio capilar

debido a procesos de peroxidación lipídica [31]. En el músculo gastrocnemio del grupo hiperoxia también se observó la obliteración de los capilares. Entre las funciones de los vasos sanguíneos están la de suministrar oxígeno y nutrientes a todos los órganos y tejidos del cuerpo, además de la eliminación de productos de desecho y el equilibrio de fluidos. Cualquier desequilibrio en estas funciones podría conllevar consecuencias patológicas afectando las partes del cuerpo irrigada por una red vascular particular [32]. El endotelio capilar es

una monocapa que conforma la parte más interna de los vasos sanguíneos. El endotelio sano actúa como una barrera selectiva que controla el movimiento de fluidos, iones y otras macromoléculas entre la circulación sanguínea y los tejidos adyacentes por medio de la regulación de los complejos de unión entre las células endoteliales [33]. La disfunción endotelial (DE) puede dar origen a la pérdida del balance entre los factores vasodilatadores y vasoconstrictores derivados del endotelio [34]. Se ha determinado que el estrés oxidativo puede provocar la DE, específicamente la vaso-obliteración y la inflamación en los tejidos. Se conoce como DE a la presencia de un fenotipo endotelial alterado caracterizado por una biodisponibilidad reducida de óxido nítrico (NO) y estrés oxidativo aumentado [35]. El endotelio controla el tono vascular mediante la producción de NO, prostaciclina, y factor hiperpolarizante, todos ellos factores vasodilatadores [35]. Se analizó el efecto de la hiperoxia sobre el cerebelo inmaduro de ratas recién nacidas y se observó capilares obstruidos con edema endotelial [31]. En el cerebelo la obliteración capilar conduce a la isquemia e impide el normal transporte de oxígeno hacia las células que componen la barrera hematoencefálica. La elevada toxicidad de la hiperoxia en el recién nacido inmaduro se debe, presumiblemente, a la inmadurez de su sistema antioxidante. En las áreas edematizadas del músculo del grupo hiperoxia se observó una proliferación de fibroblastos posiblemente debido a un proceso de reparación del tejido dañado por el estrés oxidativo [36]. Los fibroblastos y sus productos (fibras y sustancia fundamental amorfa) tienen como función el mantenimiento de la estructura de los tejidos intersticiales. La distribución y proporción relativa de los fibroblastos en los tejidos tienen un impacto considerable en la regulación de la función del tejido intersticial dañado [37]. En el grupo hiperoxia-aurina se observó una mejor organización de las miofibrillas debido a la ausencia de edema intra-fascicular. En el tejido intersticial alrededor de

los fascículos musculares la presencia de edema fue inferior comparado con el grupo hiperoxia y el número de fibroblastos es menor. Con respecto al potencial que posee la aurina como antioxidante, hay estudios en el músculo esquelético que revelaron su papel en la estabilización de los fosfolípidos de membrana [38] y en la regulación de la concentración de Ca^{+2} intracelular, aumentando la tasa de absorción del retículo sarcoplasmático (RS) y el potencial de almacenamiento total de las vesículas del RS [39].

En el grupo hiperoxia-aurina los fascículos nerviosos no presentaron problemas de edematización y sus zonas circundantes se observaron normales. Con respecto a los capilares, la mayoría de estos se observaron normales, pero algunos presentaron cierto grado de obliteración. La aurina, es un aminoácido semiesencial que se encuentra en altas concentraciones en el plasma y las células de los mamíferos, ejerciendo un papel importante en la citoprotección de los tejidos [40]. Se ha demostrado que la disminución de aurina podría agravar la acumulación de daño inducido por las ERO que puede conducir a la muerte [41]. Las ERO se producen constantemente en las mitocondrias en condiciones fisiológicas y se equilibran entre la actividad pro y antioxidante [42]. Las mitocondrias contienen aurina para protegerse contra el estrés oxidativo. Recientemente, se analizó el impacto de la aurina sobre la función mitocondrial del músculo esquelético en un modelo de entrenamiento de resistencia en ratas donde se demostró que los índices mitocondriales, incluida la actividad de las deshidrogenasas, el nivel de ATP y el potencial de membrana aumentaron significativamente con el tratamiento con aurina [43]. En el presente estudio se observó que la aurina disminuyó la vaso-obliteración en el grupo hiperoxia-aurina. Se ha determinado que la aurina y los ácidos biliares (AB) conjugados con aurina juegan un papel en la vasodilatación a través de la modulación del óxido nítrico (NO), un radical libre

derivado del nitrógeno y producido en el endotelio por la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) [44]. La vasodilatación dependiente de endotelio, es una importante respuesta adaptativa a la vasculatura durante el stress [44]. La administración exógena tanto de taurina como de AB conjugados con taurina también participa en la modulación de las funciones cardiovasculares [44].

CONCLUSIONES

La taurina ingerida por la madre de las ratas recién nacidas expuestas a hiperoxia postnatal y transferida a las crías a través de la leche materna, disminuyó la peroxidación de lípidos de membrana en el músculo esquelético, protegió la estructura del músculo de procesos de edema intersticial y disminuyó la vaso-obliteración aumentando la permeabilidad de los capilares sanguíneos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), el Consejo de Investigación del Núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente (CINS-UDO) y el Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente “Dra. Susan Tai” (IIBCA-UDO).

REFERENCIAS

- [1] Liu L., Oza S., Hogan D., Chu Y., Perin J., Zhu J. (2016) “Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals” *Lancet* 388(10063):3027-3035.
- [2] López-García B., Nilvia A., Díaz N. (2018) “Incidencia de prematuros en el Hospital General Naval de Alta Especialidad 2015-2017” *Rev Sanid Mil* 72(1):19-23.
- [3] Blencowe H., Cousens S., Oestergaard M., Chou D., Moller A., Narwal R. (2012) “National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications” *Lancet* 379(9832):2162-2172.
- [4] Vento M., Sastre J., Asensi M., Viña J. (2005) “Room-air resuscitation causes less damage to heart and kidney than 100% oxygen” *Am J Respir Crit Care Med* 172(11):1393-1398.
- [5] Kamath B., Jobe A. (2019) “Fetal lung development and surfactant”. En R. Resnik, C. Lockwood, T. Moore, M. Green, J. Copel y R. Silver. (Eds). “*Creasy and resnik’s maternal-fetal medicine: principles and practice*” Pensilvania, Estados Unidos, Sauder Elsevier, pp. 207-218.
- [6] Vento M. (2014) “Oxigenoterapia en el recién nacido” *An Pediatr Contin* 12(2):68-73.
- [7] Saugstad O., Ramji S., Vento M. (2005) “Resuscitation of depressed newborn infants with ambient air or pure oxygen: a meta-analysis” *Biol Neonate* 87(1): 27-34.
- [8] Scicchitano B., Pelosi L., Sica G., Musaró A. (2018) “The physiopathologic role of oxidative stress in skeletal muscle” *Mech Ageing Dev* 170:37-44.
- [9] Huerta M., Ortega M., Cobos M., Herrera J., Díaz-Cruz A., Guinzberg R. (2005) “Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos” *Interciencia* 30(12):728-734.
- [10] Pereira J., Silva R., Fernández A., Marins J. (2012) “Efecto de la ingestión de taurina en el desempeño físico: una revisión sistemática” *Rev Andal Med Deporte* 5(4):156-162.
- [11] Brosnan J., Brosnan M. (2006) “The sulfur-containing amino acids: an overview” *J Nutr* 136(6):1636-1640.
- [12] Romer F., Bosch-Morell F., Romero M., Jareño E., Romero B., Marín N., Roma J. (1998) “Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease” *Environ Health Perspect* 106(5):1229-1234.
- [13] Fassiano A., Ortiz N., Ríos de M.M. (2012) “Estrés oxidativo en cefalópodos: I. Determinación de TBARS

- Oxidative stress in cephalopods: I. TBARS determination” *Acta toxicol argent* 20(2):57-61.
- [14] Sahin E., Gumuslu S. (2004) “Alterations in brain antioxidant status, protein oxidation and lipid peroxidation in response to different stress models” *Behav Brain Res* 155(2):241-248.
- [15] Dembinska O., Rojas L.M., Varma D., Chemtob S., Lachapelle P. (2001) “Graded contribution of retinal maturation to the development of oxygen-induced retinopathy in rats” *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42(5):1111-1118.
- [16] Zapata-Vivenes E., Nusetti O. (2007) “Protection of glycolytic enzymes by metallothioneins from oxidative damage in the digestive gland of green lipped mussel” *J Shellfish Res* 26(2):335-344.
- [17] Sokal R., Rohlf, F. (1989) “*Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*” Madrid, España, H-Blumé Ediciones.
- [18] Rojas L., Suárez S., Lemus M., Benítez K., Ramírez Y., Mitchell M., Boada-Sucre A. (2004) “Estrés oxidativo como posible causante de retinopatía en ratas en desarrollo sometidas a hiperoxia” *Interciencia* 29(10):556-561.
- [19] Rojas L., Suárez S., Benítez K., Boada-Sucre A., Ramírez Y., Romero M.A., Hernández G. (2005) “Ultraestructura de la retinopatía causada por la hiperoxia en ratas en desarrollo” *Rev Inves Clín* 57(6):794-801.
- [20] Finkel T., Holbrook N. (2000) “Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing” *Nature* 408(6809):239-247.
- [21] Justo C., Gutiérrez V. (2002) “Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes” *Rev Cubana Med Milit* 31(2):126-133.
- [22] Caraballo F., Calzadilla L. (2016) “Histopatología, estrés oxidativo y muerte mitocondrial en el corazón de ratas expuestas a hiperoxia posnatal y tratadas con taurina” (Trabajo de Grado). Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.
- [23] Maleki V., Mahdavi R., Hajizadeh-Sharafabad F., Alizadeh M. (2020) “The effects of taurine supplementation on oxidative stress indices and inflammation biomarkers in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial” *Diabetol Metab Syndr* 12:9.
- [24] Kim C., Cha Y. (2014) “Taurine chloramine produced from taurine under inflammation provides anti-inflammatory and cytoprotective effects” *Amino Acids* 46(1):89-100.
- [25] Gutierrez J., Stoppani A. (1998) “La mieloperoxidasa como factor de daño oxidativo del miocardio: inactivación de la dihidrolipoamida deshidrogenasa” *Medicina*. 58(2):171-178.
- [26] Song Q., Guo J., Zhang Y., Chen W. (2021) “The beneficial effects of taurine in alleviating fatty liver disease” *J Funct Food* 77:104351.
- [27] Heird W. (2004) “Taurine in neonatal nutrition” *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 89(6):F473-F474.
- [28] De Luca A., Conte D., Failli P., Franconi F., Giotti A. (1990) “Effects of taurine on mammalian skeletal muscle fiber during development” *Prog Clin Biol Res* 351:163-173.
- [29] Flores-Villegas B., Flores I. (2014) “Edema. Enfoque clínico” *Med Int Méx* 30:51-55.
- [30] Rojas L., Liscano A., Boada-Sucre A., Palmar M., Moreno M., Prin J. (2013) “Daños observados en la sustancia gris del cerebelo de ratas en desarrollo expuestas a hiperoxia posnatal” *Acta Microscópica* 22(2):160-168.
- [31] Braunwald E., Loscalzo J. (2015) “Edema”. En D. Kasper, A. Fauci, S. Hauser, D. Longo, J. Larry, J. Loscalzo. (Eds). “*Principios de Medicina Interna*” Madrid, España, McGraw-Hill Interamericana de España, pp. 250-252.
- [32] Ronning O., Guldvog B. (1999) “Should stroke

- victims routinely receive supplemental oxygen? A quasi-randomized controlled trial” *Stroke* 30:2033-2037.
- [33] Steyers C., Miller F. (2014) “Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases” *Int J Mol Sci* 15(7):11324-11349.
- [34] Carvajal C. (2019) “Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo” *Med Legal Costa Rica* 36(1):91-100.
- [35] Mikhed Y., Daiber A., Steven S. (2015) “Mitochondrial oxidative stress, mitochondrial DNA damage and their role in age-related vascular dysfunction” *Int J Mol Sci* 16(7):15918-15953.
- [36] Ucero C., Acosta Y., Montero M. (2014) “Fibroblasto: célula fundamental en la salud y en la enfermedad periodontal” *Acta odontol venez* 52(3):1-13.
- [37] Camerino C., Bryant S., Mambrini M., Franconi F., Giotti A. (1990) “The action of taurine on muscle fibers of normal and congenitally myotonic goats” *Pharmacol Res* 22(1):93-94.
- [38] Schaffer S., Jong C., Ramila K., Azuma J. (2010) “Physiological roles of taurine in heart and muscle” *J Biomed Sci* 17(1):S2.
- [39] Liu k., Mao X., Li H., Liu D., Le G., Gan F., Pan C., Huang K., Chen X. (2020) “Regulation of taurine in OTA-induced apoptosis and autophagy” *Toxicon* 181:82-90.
- [40] Eppler B., Dawson R. (2002) “Cytoprotective role of taurine in a renal epithelial cell culture model” *Biochem Pharmacol* 63(6): 1051-1060.
- [41] Wu D., Cederbaum A. (2003) “Alcohol, estrés oxidativo y daño de los radicales libres” *Alcohol Res Health* 27(4):277-284.
- [42] Ommati M., Farshad O., Jamshidzadeh A., Heidari, R. (2019) “Taurine enhances skeletal muscle mitochondrial function in a rat model of resistance training” *PharmaNutrition* 9:100161.
- [43] Guizoni D., Vettorazzi J., Carneiro E., Davel A. (2020) “Modulation of endothelium-derived nitric oxide production and activity by taurine and taurine-conjugated bile acids” *Nitric Oxide* 94:48-53.
- [44] Cobos L. (2014) “Endotelio e hipertensión arterial” *An Fac med* 75(4):345-50.