



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas  
Área Biología Celular y Molecular

**Mecanismo de regulación transcripcional de genes que  
codifican para receptores/canales nociceptivos del dolor  
P2X3 y TRPV1: Rol de Runx1**



**Giorgia Daniela Ugarte Marín**

CONCEPCIÓN-CHILE  
2011

Profesor Tutor: Dr. Martín Montecino L  
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular  
Facultad de Ciencias Biológicas

Profesor Co-Tutor: Dra. Brigitte van Zundert  
Dpto. de Fisiopatología  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

En mamíferos, la percepción del dolor es iniciada por la transducción de un estímulo nocivo a través de canales iónicos y receptores especializados en un grupo de células sensoriales primarias que tienen sus cuerpos celulares localizados en el ganglio trigémino y en el ganglio de la raíz dorsal (DRGs), denominadas neuronas nociceptivas (Wang and Woolf, 2005). Análisis de ratones que carecen del receptor TRPV1 o del canal P2X3 han mostrado la importancia de estas dos proteínas en la percepción del dolor. De esta manera, ratones TRPV1<sup>-/-</sup> responden deficientemente a una sensibilidad química y térmica (Caterina et al., 2000), mientras que ratones P2X3<sup>-/-</sup> muestran un déficit en la sensación de dolor inflamatorio (Zhong et al., 2001). Recientemente, se ha demostrado que el factor de transcripción Runx1 tiene una función primordial en la diferenciación de DRGs hacia neuronas sensoriales que regulan el dolor térmico y neuropático (Chen et al., 2006). Así, mediante la eliminación específica de Runx1 en DRGs (Runx1<sup>-/-</sup>) se encontró una disminución de la expresión de varios canales iónicos y receptores involucrados en la sensación de dolor, entre los que se incluye a P2X3 y TRPV1 (Chen et al., 2006). Sin embargo, estos resultados no establecen el mecanismo de acción de Runx1 como tampoco si este factor se une directa o indirectamente al promotor de los genes P2X3 y TRPV1, de esta forma regulando su transcripción. Al respecto, mediante la utilización de bases de datos para predecir sitios de unión de factores de transcripción en el DNA como TFSEARCH, hemos encontrado que ambos promotores contienen múltiples sitios consenso para la unión de Runx1. Lo anterior da origen a la **Hipótesis de Trabajo: Runx1 se une directamente a los promotores de los genes TRPV1 y P2X3 modulando positivamente**

**su transcripción.** Para dar respuesta a esta hipótesis el **Objetivo General** de esta tesis ha sido **determinar la contribución del factor Runx1 en la regulación de la expresión de ambos receptores.**

Nuestros resultados indican que Runx1 es capaz de modular directa y positivamente a los promotores de los genes P2X3 y TRPV1. Evidencia de ello, son resultados obtenidos en células PC-12 mediante ensayos de sobreexpresión de Runx1, pérdida de función con el dominante negativo Runx1 $\Delta$ C, clonamiento y delección seriada de los promotores de los genes P2X3 y TRPV1, inmunoprecipitación de cromatina y mutagénesis sitio dirigida. Junto a lo anterior, un análisis de los factores que participan en la modulación de la actividad Runx1 permitió encontrar que el factor de transcripción C/EBP $\beta$  se une a sitios funcionales que le permiten no sólo modular directa y positivamente la actividad de ambos promotores, sino también potenciar la actividad de Runx1 en forma aditiva en el promotor del gen P2X3 y TRPV1. De igual manera se detectó que los co-reguladores TLE-1, BRG-1 y las HDACs son capaces de reprimir la actividad estimulada por Runx1 en los promotores de los genes P2X3 y TRPV1.