



**Universidad de Concepción
Facultad de Farmacia
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología**

“Efecto de los ácidos biliares sobre la regulación del metabolismo de L-Arginina/Óxido Nítrico en células endoteliales de cordón umbilical humano”.

**Tesis para optar al título de Bioquímico y al grado
De Magíster en Bioquímica Clínica e Inmunología**

**Profesor Patrocinante y Guía: Dr. Daniel Andrés Durán Sandoval
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología**

**HÉCTOR ANTONIO CONTRERAS MORAGA
PRIMER SEMESTRE DE 2009**

RESUMEN

Los ácidos biliares (ABs) son los productos finales del metabolismo del colesterol, mediante el cual éste, luego de su utilización, es eliminado del organismo como un componente principal de la bilis. Observaciones clínicas recientes demuestran que los ABs son capaces de modular el tono vascular a través de mecanismos no bien descritos, pero que sugieren su participación tanto en la actividad de algunas enzimas como en el metabolismo del sustrato, necesarias para la producción de sustancias vasoactivas.

Entre estas sustancias destaca el óxido nítrico (NO), gas derivado de las células endoteliales. El NO es sintetizado por la enzima Óxido Nítrico Sintasa endotelial (eNOS) cuya actividad es regulada, entre otras, por la presencia de cofactores y la disponibilidad de su sustrato L-Arginina. La L-arginina es un aminoácido semi-esencial transportado a través de la membrana plasmática por sistemas de transporte activo entre los que se incluye hCAT-1.

El NO producido por el endotelio es capaz de difundir hacia las células musculares lisas en el vaso sanguíneo, donde actúa como segundo mensajero activando una cascada de fosforilaciones y proteínas kinasas cuyo resultado final es el aumento del diámetro del vaso sanguíneo y la relajación de éste.

Además, la L-Arginina puede ser metabolizada a L-Ornitina y urea por acción de las Arginasas, postulando que la co-expresión de estas enzimas alterarían la actividad de eNOS al competir por su sustrato común L-arginina.

De esta manera los ABs, además de cumplir su rol primordial en metabolismo del colesterol, podrían participar en la regulación del tono vascular.

Así, el objetivo la presente tesis es evaluar el efecto de los ácidos biliares epímeros Quenodeoxicólico (CDCA) y Ursodeoxicólico (UDCA) sobre los mecanismos moleculares que la regulan el metabolismo de L-Arginina necesaria para la síntesis de NO en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC).

Nuestros estudios realizados en HUVEC, demuestran que sólo CDCA por 12 horas es capaz de aumentar la síntesis de NO en una respuesta dependiente de concentración, mientras de UDCA no ejerce efecto alguno. El aumento de la síntesis de NO por CDCA se correlaciona con un incremento en la expresión de eNOS y una mayor fosforilación del residuo Serina 1177 (Ser¹¹⁷⁷) relacionada con la actividad en el dominio reductasa. Además, los resultados demuestran que CDCA no modifica el transporte endotelial de L-arginina, mientras que UDCA lo disminuye, sugiriendo una regulación del transportador CAT-1. Por otra parte, demostramos que CDCA y UDCA son capaces de aumentar la síntesis de urea en HUVEC sin modificar la expresión ni la actividad de ARG2.

Estos resultados confirman que CDCA, pero no UDCA, regula la síntesis endotelial de NO sugiriendo un mecanismo asociado a sus características fisicoquímicas. Además observamos que este AB regula directamente la actividad eNOS en un modelo de células endoteliales. Por otro lado, tanto CDCA como UDCA aumentan la síntesis endotelial de urea, efecto que no se relacionaría con la síntesis de NO. Finalmente, por primera vez hemos demostrado que sólo UDCA es capaz de

regular la disponibilidad de L-arginina, efecto relacionado con los niveles de transcripción del transportador hCAT-1.

Estas observaciones podrían estar a la base de la hipotensión asociada a hipercolanemia en hepatopatías congestivas como la colestasia intrahepática del embarazo.

Financiamiento Proyecto DIUC 205.072.032-1.0

