

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



REGULACION TRANSCRIPCIONAL DEL TRANSPORTADOR
EQUILIBRATIVO DE NUCLEOSIDOS ENT1 POR ALTA D-
GLUCOSA EN ENDOTELIO FETAL HUMANO

Tesis Doctoral presentada en la Escuela de Graduados de la Universidad
de Concepción como parte de los requisitos para optar al grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

por

Claudio Aguayo Tapia

2004

RESUMEN

Las células endoteliales de vena umbilical humana (HUVECs) expuestas a altas concentraciones de D-glucosa (25 mM) muestran una inhibición del transporte de adenosina asociado con una disminución en el número de transportadores presentes en la membrana plasmática. Resultados similares fueron observados tanto en membrana plasmática como en vesículas de membranas aisladas de células endoteliales cultivadas en presencia de altas concentraciones de D-glucosa. Utilizando un anticuerpo para hENT1 fue posible determinar que las HUVECs expresan la proteína hENT1. Además fue posible establecer que células endoteliales expuestas a alta D-glucosa presentan una disminución en los niveles de la proteína hENT1 en la membrana celular.

Por otro lado, este estudio ha establecido que los niveles de mRNA para hENT1 fueron significativamente menores en células endoteliales cultivadas en presencia de D-glucosa (25 mM) y de forbol 12-miristato 13-acetato (PMA). Los efectos de D-glucosa y PMA fueron bloqueados por calfofostina C y RO-320432 (inhibidores de PKC). De igual manera, hemos determinado que HUVECs expuestas a PMA y D-glucosa muestran una disminución en la vida media para el mRNA de hENT1. Nuestros resultados sugieren que el efecto de D-glucosa y PMA sobre la expresión de hENT1 estaría asociado con una disminución en la vida media del mRNA para hENT1, posiblemente a través de la activación de PKC.

En esta tesis se presentan los primeros análisis del promotor de hENT1. Nuestros resultados muestran la funcionalidad del promotor y además indican que D-glucosa, PMA y óxido nítrico modulan la actividad del promotor de hENT1 en células

humanas, induciendo un aumento en la actividad del promotor hENT1 en la línea celular ECV-304.

En resumen, en esta tesis se presentan las primeras evidencias que muestran la expresión de la proteína hENT1 en células endoteliales humanas y su regulación por D-glucosa. De igual forma se muestran los primeros resultados experimentos que demostrarían la regulación post-transcripcional y transcripcional del promotor de hENT1 por D-glucosa, proteínas kinasa C y óxido nítrico en células endoteliales humanas.

