

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



**Expresión y función del receptor LOX-1 en células humanas normales y tumorales**

Tesis doctoral presentada a la Escuela de Graduados de la Universidad de Concepción,  
como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas,  
área Biología Celular y Molecular

Por

Liliana Ivone Lamperti Fernández

2009

## 5.- RESUMEN

El receptor LOX-1 para lipoproteínas de baja densidad oxidada (oxLDL), pertenece a la familia de receptores scavenger para oxLDL ligados a lectina, y parece ser fundamental en el desarrollo de lesiones ateromatosas. Su expresión ha sido demostrada en células endoteliales, células musculares lisas y en macrófagos, pero no existe evidencia de expresión de LOX-1 en células tumorales. Estudios iniciales en nuestro laboratorio indicaron abundante expresión de una proteína reactiva con un anticuerpo policlonal anti-LOX-1 en células de carcinoma prostático DU-145.

El objetivo central de este tesis fue establecer que las células de cáncer prostático humano DU-145 expresan un receptor de lipoproteína oxidada, LOX-1, funcional. Para ello, estudiamos la expresión, localización y actividad funcional del receptor LOX-1 en las células DU-145, luego clonamos el ADNc codificando la secuencia completa de LOX-1 a partir de estas células, seguido de sobreexpresión y análisis de su localización y función en células humanas HEK-293.

Específicamente, examinamos la expresión de LOX-1 en células DU-145 por PCR, comparándola con la expresión en células endoteliales de vena umbilical humana, en macrófagos activados THP-1 y en células embrionarias de riñón humano HEK-293. Estudiamos la localización de la proteína LOX-1 por medio de un anticuerpo anti-LOX-1 dirigido al extremo C-terminal extracelular de la proteína. Examinamos la función de LOX-1 en ensayos de internalización de oxLDL marcada con Dil y en experimentos de pérdida de adhesión en células tratadas con oxLDL. Finalmente, clonamos el receptor LOX-1 a partir de ARNm aislado desde células THP-1 y DU-145 y construimos

quimeras con la proteína fluorescente verde (GFP), para estudiar la localización y dinámica subcelular en respuesta al ligando oxLDL.

Los resultados de este estudio demostraron que las células DU-145 expresan elevados niveles de LOX-1 que se encuentra localizado principalmente a nivel de la membrana plasmática. Los estudios funcionales mostraron que las células DU-145 responden a la exposición de oxLDL aumentando la expresión de LOX-1 y pierden su adherencia a la placa de cultivo. Los ensayos con Dil-oxLDL mostraron una mayor internalización en células DU-145 que en células THP-1, respuesta que fue negativa en células HEK-293 controles y fue bloqueada por anticuerpos anti-LOX-1. Con respecto al clonamiento del receptor LOX-1, se obtuvo el ADNc proveniente de células DU-145, el que mostró un 100% de identidad en la secuencia con LOX-1 humano. La sobreexpresión de LOX-1 de origen prostático en células HEK-293 les otorgó la capacidad de responder a oxLDL con pérdida de su adherencia celular y ganancia de la capacidad para internalizar Dil-oxLDL.

Nuestros resultados indican que las células DU-145 expresan un receptor LOX-1 auténtico, capaz de unir en forma específica al ligando oxLDL. La unión de oxLDL al receptor induce cambios en la función de las células que lleva a la internalización del complejo ligando-receptor y promueven la pérdida de la adherencia celular. Esto genera la pregunta de si LOX-1 tiene un papel que jugar en cáncer durante la propagación tumoral y metástasis.