



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE FARMACIA  
PROGRAMA DE MAGISTER EN BIOQUÍMICA CLÍNICA E INMUNOLOGÍA**

**Caracterización del transporte de adenosina en células progenitoras  
de endotelio humano**



**PROFESOR GUÍA: DR. CLAUDIO AGUAYO TAPIA  
DPTO. DE BIOQUÍMICA CLÍNICA E INMUNOLOGÍA  
FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**

**TESIS PARA SER PRESENTADA A LA DIRECCION DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD DE  
CONCEPCION**

**ENRIQUE ALBERTO GUZMÁN GUTIÉRREZ  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2010**

## RESUMEN

Las células progenitoras endoteliales (EPC) son células derivadas de la médula ósea, que pueden proliferar y diferenciarse en células endoteliales maduras. En esta diferenciación participa el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el cual es liberado en condiciones de hipoxia, siendo regulado por la concentración extracelular de adenosina. Este nucleósido, actúa como un agente protector en condiciones de isquemia, mediante la activación de receptores de membrana, es por esto que las células cuentan con sistemas transportadores que regulan la concentración extracelular de adenosina. Los transportadores de nucleósidos se clasifican en dos grandes familias: i. Transportadores de nucleósidos equilibrativos (ENT), los cuales se subdividen de acuerdo a su sensibilidad a Nitrobenclitioinosina (NBTI); ii. Transportadores de nucleósidos concentrativos (CNT), los cuales son dependientes de sodio, y se subdividen de acuerdo a los tipos de nucleósidos transportados.

No existen estudios que demuestren la expresión de transportadores de nucleosidos en células madres humanas adultas. Es por esto que, el objetivo general de esta tesis es: Caracterizar el transporte de adenosina y expresión de transportadores de nucleosidos (NT) en células progenitoras endoteliales humanas y determinar el efecto de la diferenciación sobre la expresión de NT.

Nuestros resultados demuestran que las células progenitoras endoteliales (hEPCs) expresan los sistemas hENT1 y hCNT3 funcionales, pero no hENT-2, hCNT1, y hCNT2, en las diferentes etapas de diferenciación. El transporte de nucleósidos equilibrativo fue inhibido por NBTI en hEPC cultivadas por 3 días (hEPC-3d), pero solo parcialmente reducido a los 14 días de cultivo (hEPC-14d).

Los niveles de proteína y mRNA para hENT-1 disminuyen en hEPC-14d comparado con hEPC-3d, pero los niveles de mRNA para hCNT3 aumentan en hEPC-14d. Además, se demostró un incremento de la expresión de marcadores endoteliales, asociado a una disminución en la expresión de marcadores de células madres indiferenciadas en las etapas de cultivo estudiadas.

En hEPC-3d, el transporte de adenosina mediado por hENT-1 fue saturable e independiente de sodio, mientras que en hEPC-14d el transporte de adenosina fue insensible a NBTI, semi-saturable, y mediado por dos componentes de transporte. El *componente 1*, de alta afinidad fue independiente de sodio e inhibido por NBTI, característico de un transportador tipo hENT1; y el *componente 2*, baja afinidad, no inhibido por NBTI, dependiente de sodio, y de la concentración de protones (pH) y posee una estequiometría sodio-adenosina de 2 : 1, todo lo cual sugiere la presencia de un transportador tipo hCNT3.

Estos resultados representan las primeras evidencias que demuestran que células progenitoras endoteliales humanas transportan adenosina principalmente mediado por hENT-1, cuya actividad disminuye en hEPC-14d. Pero además, en hEPC-14d, existe un aumento en la expresión y actividad del transportador dependiente de Na<sup>+</sup>, compatible con sistema tipo hCNT3. Estos resultados permiten sugerir que cambios en el estado de diferenciación de EPC hacia un fenotipo endotelial, podría asociarse con cambios en el patrón de expresión de transportadores de nucleósidos.