

Efecto del transportador de glucosa GLUT-1 sobre la expresión de la ECA2 en células glomerulares mesangiales transfectadas con GLUT-1

Clara Barrios Barrera¹, Eva Rodríguez¹, Jan Wysocki², Francisco Gonzalez-Pacheco², Josep Lloveras¹, Charles Heilig², Julio Pascual¹, Daniel Batlle²

¹Servicio de Nefrología, Parc de Salut Mar, Universidad autónoma de Barcelona. ²Division of Nephrology & Hypertension, Dept. of Medicine, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, IL, USA

Introducción

El transportador de glucosa Glut-1 es la principal vía de absorción de glucosa en el glomérulo renal. En modelos animales de diabetes experimental la expresión glomerular del Glut-1 está aumentada. La ECA2 es una homóloga de la ECA que, a diferencia de ésta, presenta una alta capacidad para degradar la Angiotensina II (Ang-II). Distintos estudios han evidenciado que la expresión glomerular de la ECA2 está disminuida en la diabetes, este hecho podría conducir al incremento de Ang-II en el glomérulo. (Figura 1)

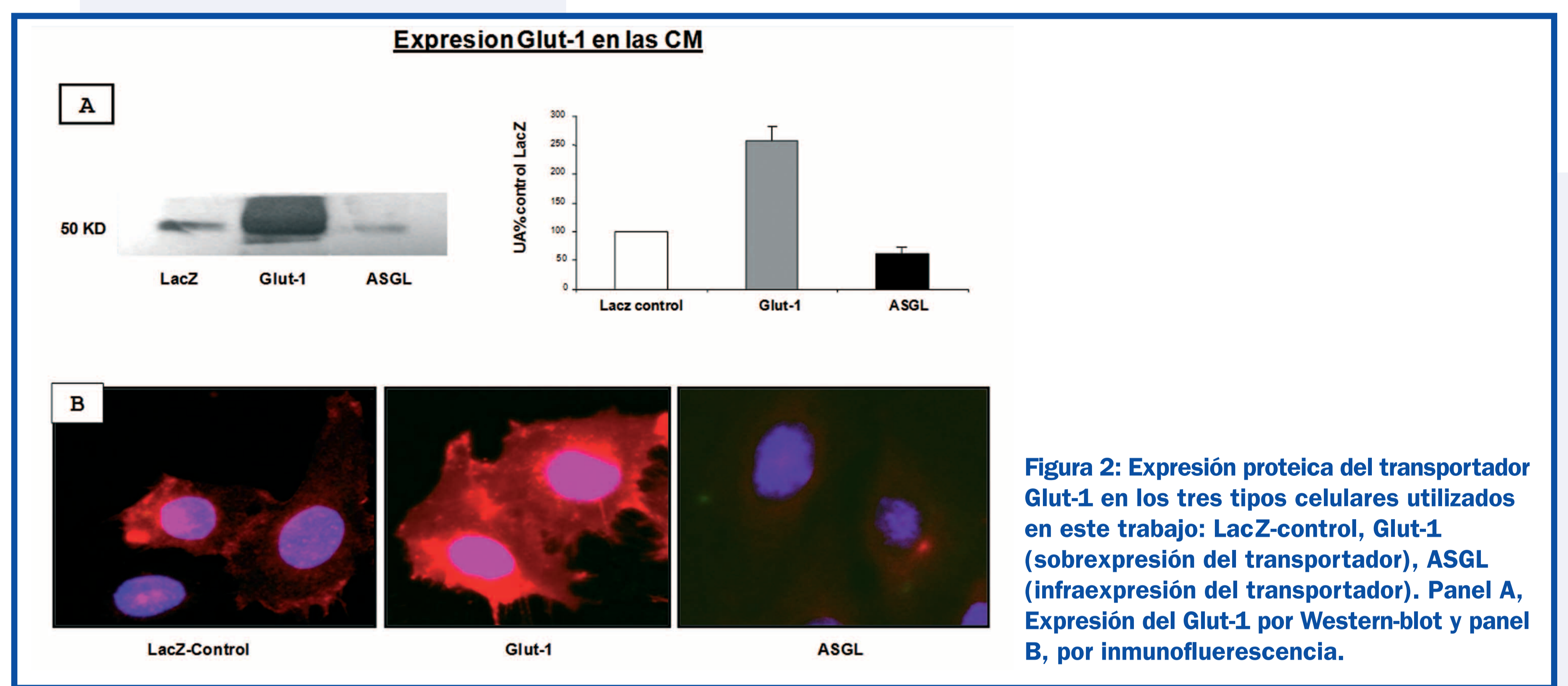
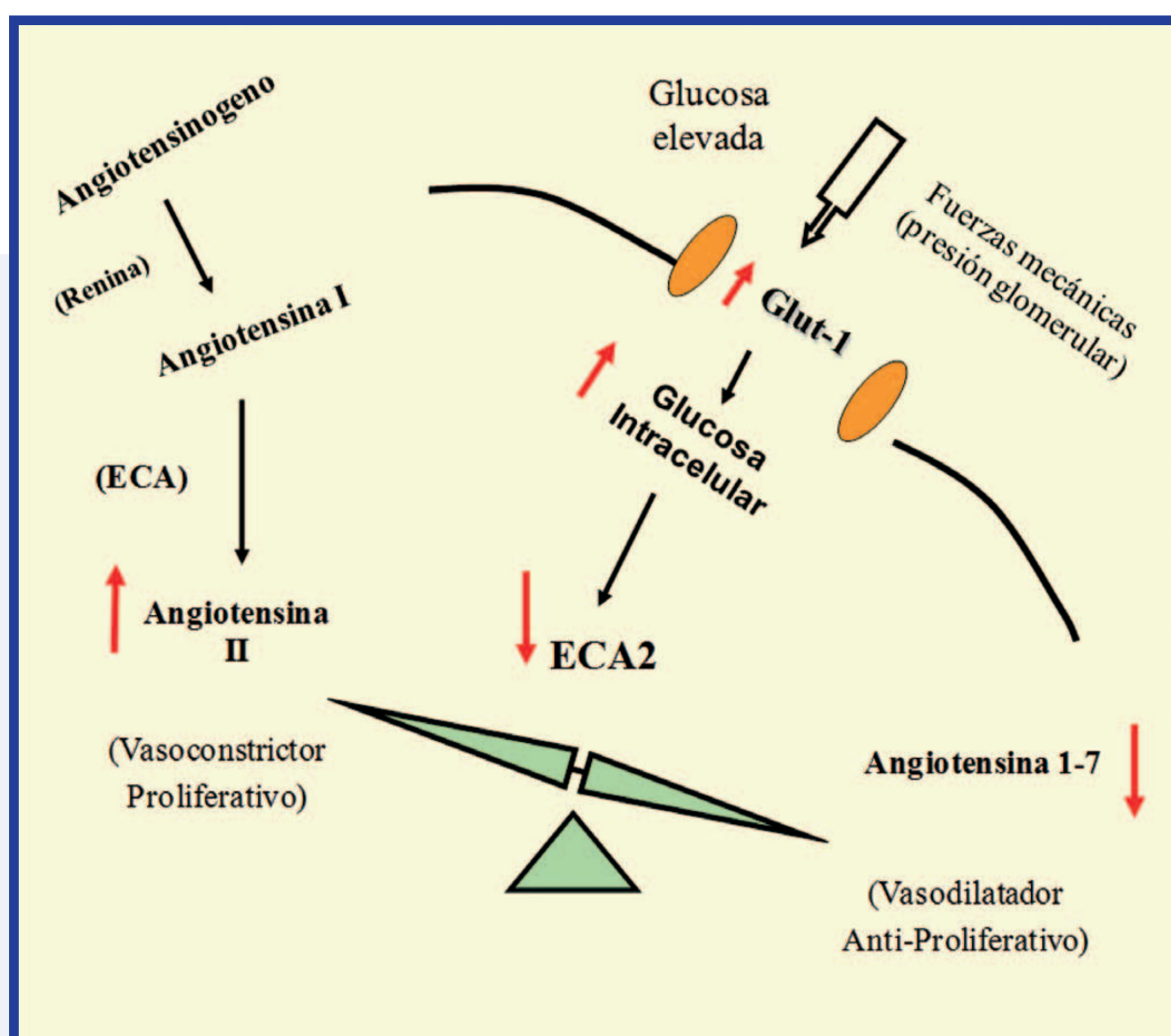
Nosotros postulamos que la sobreexpresión del Glut-1 podría estar relacionada con el descenso de la ECA2 y de esta manera contribuir a la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona. En este caso, tanto la inhibición química como génica del transportador, con la consecuente disminución de absorción de glucosa celular, debería de revertir la infraregulación de la ECA2.

Objetivos

1. Evaluar la expresión transcripcional (ARNm) y postranscripcional (expresión proteica y actividad enzimática) de la ECA2, en cultivos de células mesangiales que sobreexpresan el transportador de glucosa Glut-1.
2. Valorar la reversibilidad de los hallazgos al inhibir el transportador de glucosa Glut-1.

Métodos

Utilizamos células mesangiales de rata transfectadas con Glut-1 y sus controles (transfectadas con β -galactosidasa), exponiéndolas a un medio externo con glucosa normal. Para inhibir la absorción de glucosa celular se utilizaron células mesangiales Glut-1 antisentido (ASGL) y un inhibidor químico del transportador (Citalasina- β) (Cy- β). La expresión del ARNm fue determinada por PCR en tiempo real. La expresión proteica y la actividad enzimática fueron determinadas por Western-blot y ensayo de apagado de sustrato específico fluorescente, respectivamente. (Figura 2)



Resultados

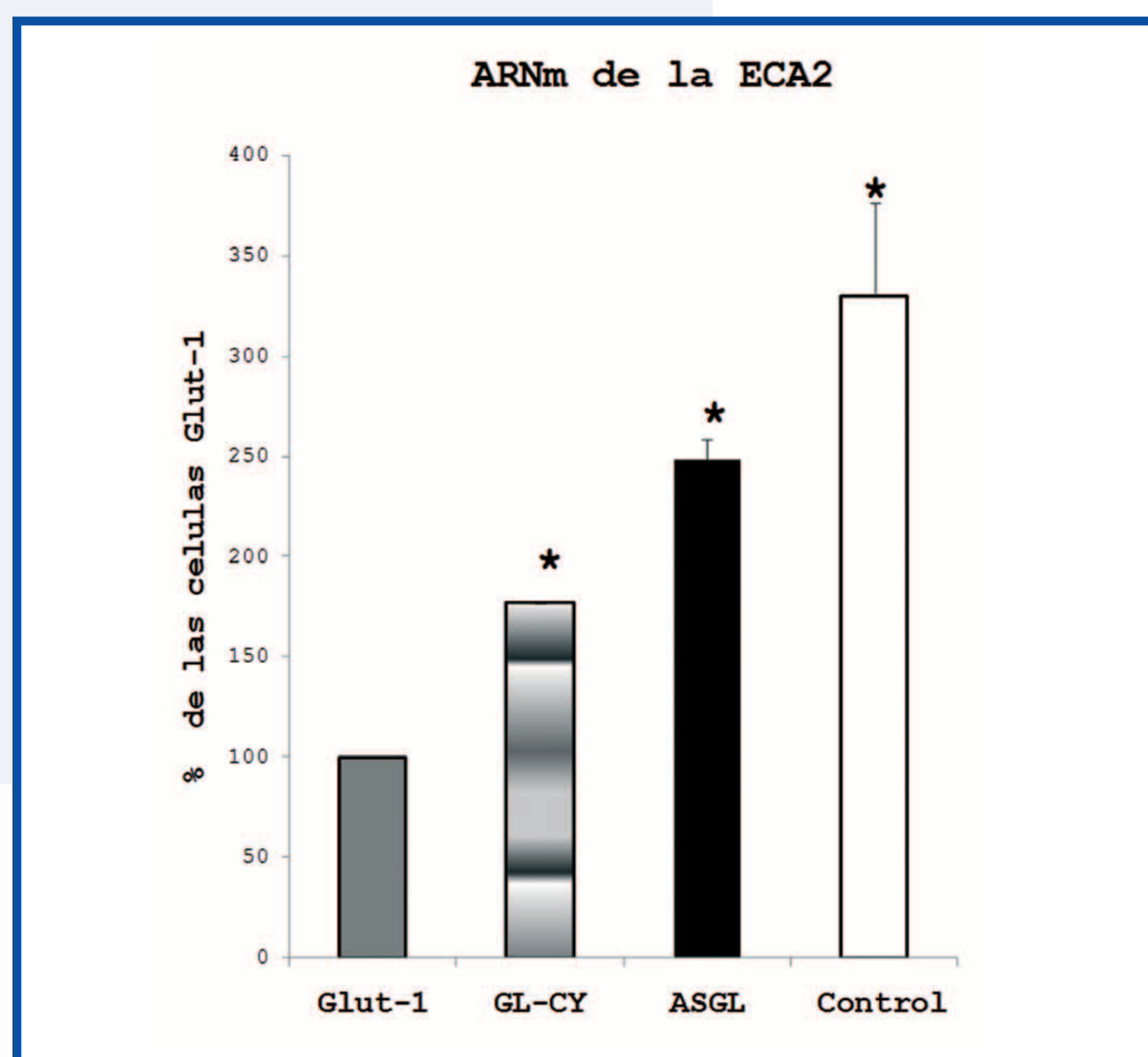


Figura 3: Expresión del ARNm de la ECA2. En las CM que sobreexpresaban Glut-1, el ARNm de la ECA2 fue el 23.9±1.9% de las células control y se recuperó significativamente tras la co-incubación con Cy- β y en las células ASGL. (176.5±0.5 y 247.9±10.2% de las Glut-1, respectivamente. n=5, *p<0.001)

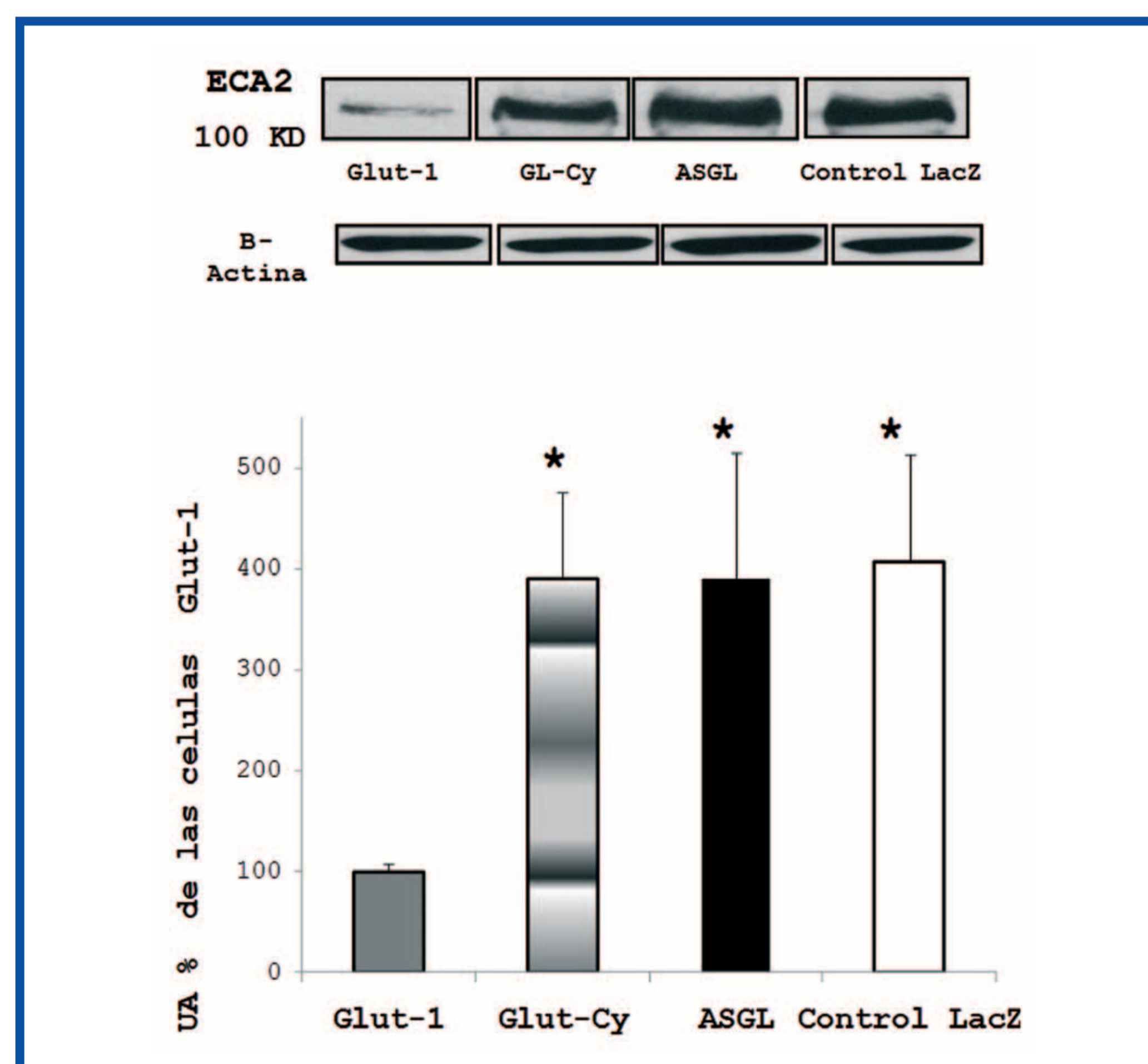


Figura 4: Expresión proteica de la ECA2. En las CM que sobreexpresaban Glut-1, la expresión proteica de la ECA2 fue sólo un 29.2±5.2% de los controles y se recuperó significativamente tras la co-incubación con Cy- β y en las células ASGL. (390.4±86 y 390.1±125% de las Glut-1, respectivamente. n=5, *p<0.05)

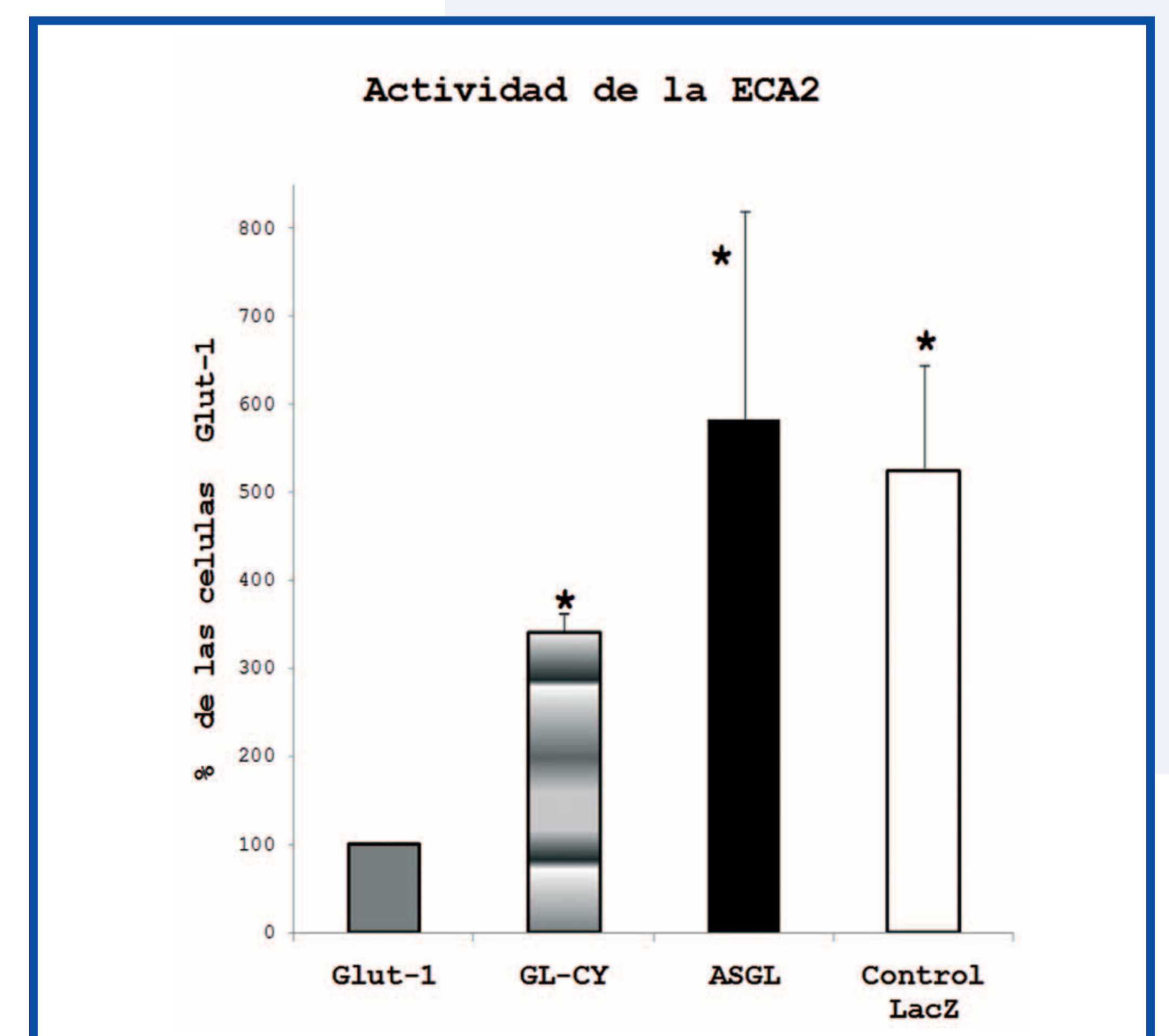


Figura 5: Actividad enzimática de la ECA2. En las CM que sobreexpresaban Glut-1, la actividad de la ECA2 fue sólo un 15±4.1% de los controles y se recuperó significativamente tras la co-incubación con Cy- β y en las células ASGL. (341±21 y 583±235% de las Glut-1, respectivamente. n=5 *p<0.05.)

Conclusiones

- En las células mesangiales, el aumento de glucosa intracelular que secunda la sobreexpresión del Glut-1, altera la transcripción de la ECA2, disminuyendo la expresión de su ARNm. De igual manera, la expresión postranscripcional de esta enzima está disminuida tanto en su expresión proteica como en su actividad.
- Los hallazgos fueron encontrados en un medio de glucosa normal y se revirtieron tras la inhibición tanto química como génica del transportador. Estos resultados ponen de manifiesto el importante papel que juega este transportador en el mecanismo modulador de la ECA2 en las células mesangiales.

Perspectivas

- Los hallazgos encontrados en los estudios celulares ofrecen una visión del mecanismo por el cual la expresión de la ECA2 se encuentra disminuida en los glomérulos de modelos de diabetes de animales de experimentación.
- Son necesarios estudios in vivo para dilucidar el papel de la sobreexpresión del Glut-1 y la hiperglucemia en la regulación de la ECA2 y su posible papel en el desarrollo de la nefropatía diabética.
- El aumento de los niveles de la ECA2, proporcionaría una buena aproximación terapéutica en el campo de la ND. De igual manera, la disminución de los niveles de Glut-1 podría tener un potencial terapéutico incrementando la actividad de la ECA2.