

Resumen

Las células de un organismo multicelular se comunican a través una amplia variedad de mecanismos que incluyen no sólo la transferencia directa por contacto célula-célula, sino también la secreción de las moléculas y vesículas que viajan a otras células. Las células de mamíferos segregan una gran variedad de vesículas extracelulares (EV). Los exosomas son vesículas extracelulares con un tamaño de entre 20-100 nanómetros que pueden transferir información en forma ácidos nucleicos o proteínas entre diferentes células por lo que son reconocidos como un potente mecanismo de comunicación intercelular. Este tipo de vesículas está siendo objeto de intensa investigación no solo en el proceso de metástasis tumoral, ya que se cree que los exosomas están relacionados con la extensión del tumor a órganos no relacionados, sino en el ámbito de la medicina regenerativa, puesto que se consideran potenciales candidatos implicados en los mecanismos paracrinos inducidos por las células madre. Por este motivo, en este trabajo se analizó el potencial terapéutico de los exosomas derivados de células madre mesenquimales (MSC). Así, nos planteamos la hipótesis de que las MSC fueran capaces de transferir exosomas hacia las células de los tejidos que reparan. Un trabajo reciente de nuestro grupo de investigación demostró que la sobreexpresión del factor inducible por hipoxia 1α (HIF- 1α) en MSC (MSC-HIF) potenciaba la capacidad terapéutica de las MSC para mejorar la función cardíaca tras un infarto agudo de miocardio (IAM). En consecuencia, estudiamos el contenido de microRNAs en los exosomas derivados de las MSC y las MSC-HIF. Se observó que las poblaciones de microRNAs presentes exosomas derivados de MSC y MSC-HIF cambiaron de manera reproducible en función de la disponibilidad de oxígeno que poseían las células, lo que interpretamos como un mecanismo respuesta celular mediada por exosomas. Así también, observamos que en las MSC-HIF la combinación de la sobreexpresión de HIF- 1α con las bajas tensiones de oxígeno generaban exosomas cargados con microRNAs con potencial terapéutico para el tratamiento del IAM. Sin embargo, no fuimos capaces de demostrar el potencial terapéutico de los exosomas aislados de dichas poblaciones celulares en un modelo de infarto experimental en rata, lo que pudo ser ocasionado por un diseño incorrecto del procedimiento experimental. Esto provocó un giro en la orientación de la tesis y decidimos centrarnos en los mecanismos celulares inducidos por los exosomas en el entorno cardíaco. En este contexto, recientemente se ha descrito la presencia de exosomas en cardiomiocitos (CM) humanos. A nivel de ultraestructura, la anatomía del tejido cardíaco revela una intrínseca relación entre los CM y las células endoteliales (ECs) que componen el endotelio microvascular coronario, el cual se encarga de nutrir a los CM realizando el transporte de combustibles metabólicos desde la sangre hacia los CM. El espacio perivascular que separa a los CM de las ECs es de tan solo $1\mu\text{m}$, permitiendo el flujo de información a corta distancia entre los CM y las ECs. Mantener esta disposición es fundamental para lograr un acople metabólico entre ambos tipos celulares. El corazón no posee reservas apreciables de combustibles metabólicos por lo el aporte de nutrientes y oxígeno debe ser continuo y regulado. Por esto pensamos que el aporte energético del endotelio hacia el corazón debería estar finamente coordinado, no solo por el control exógeno del metabolismo en todo el organismo sino también por algún mecanismo en el que el propio cardiomiocito regule el

transporte de su célula endotelial asociada. Además se sabe que las ECs liberan factores que alteran la actividad de los CM, y de la misma manera que los CM liberan factores que alteran las ECs. Sin embargo, se conoce poco a cerca de los mecanismos que regulan el flujo de nutrientes desde las ECs hacia los CM, especialmente es situaciones de estrés agudo en donde se requiere un mecanismo activo a nivel local que regule el transporte endotelial. En este trabajo se estudió cómo los exosomas derivados de los CM alteraban el transporte de glucosa en ECs. En primer lugar mostramos datos que indican que el ayuno de glucosa incrementa la síntesis y secreción de exosomas en cultivos de CM neonatales de rata. En segundo lugar demostramos que estos exosomas derivados de CM son internalizados por las ECs en una manera dependiente de la disponibilidad de glucosa del medio. Por último aportamos evidencias de que los exosomas derivados de los CM que fueron cultivados en condiciones de ayuno de glucosa fueron capaces de transferir transportadores de glucosa (GLUTs) hacia las ECs, en donde estos GLUTs transferidos mediante exosomas incrementaron la captación de glucosa y la actividad glicolítica de las ECs. Tomando en conjunto los resultados, en la presente tesis se propone un modelo de comunicación entre los CM y las ECs, en el cual el tráfico de proteínas mediado por exosomas desde los CM hacía las ECs trasladaría las necesidades metabólicas de los CM a las ECs las cuales están en contacto directo con los nutrientes presentes en el flujo coronario. Este novedoso mecanismo de acción a corta distancia revela una relación intrínseca entre la demanda de glucosa de los CM y el transporte de glucosa de las ECs permitiendo una rápida respuesta desde las ECs al incrementar la cantidad de transportadores de glucosa sin necesidad de síntesis *de novo* ni de la modificación de los perfiles de transcripción génica, lo que sin duda aumenta la eficiencia del proceso de comunicación celular.