

Biología vascular

CELLULAR BINDING OF APOLIPOPROTEIN B IN HUMANS TO LEUKOCYTES AND ERYTHROCYTES: A NOVEL TRANSPORT SYSTEM FOR ATHEROGENIC LIPOPROTEINS

S. Martínez-Hervas^{a,c}, A. Alipour^a, H. Janssen^b, T. Njo^b, R. Carmena^c, J.T. Real^c y M. Castro Cabezas^a

^aSt. Franciscus Gasthuis Rotterdam. Dpt of Internal Medicine. ^bSt Franciscus Gasthuis Rotterdam. Dpt. of Clinical Chemistry. ^cService of Endocrinology and Nutrition. Hospital Clínico Universitario de Valencia. CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM).

Background: Apolipoprotein B (apoB) is the major apolipoprotein in chylomicrons, very-low-density lipoproteins (VLDL), intermediate-density lipoprotein, and low-density lipoproteins (LDL). Apo B also acts as a ligand for the LDL receptor, mediating cellular uptake and degranulation of LDL. While apoB is only found associated to lipoproteins in plasma due to its lipophilic character, recent data suggest that it may also be associated to blood cells in humans. Potentially this may reflect a novel lipoprotein transport system in humans.

Aim: To develop a clinically useful method in which cellular-attached apoB can be detected in humans.

Material and methods: for this study a Coulter Epics XL-MCL flowcytometer with a 488 nm Argon ion laser was used. The different fluorochromes used were fluorescein isothiocyanate (FITC) and phycoerythrin-Texas Red-x (ECD). EDTA-anti-coagulated samples were used for all measurements. Monoclonal antibodies were used to define the different cell populations. Goat anti-human anti-apoB-antibodies were used as primary antibodies in combination with FITC labeled secondary antibodies. Controls experiments without anti apoB antibodies were also carried out. Data analysis was done using EXPO32 software.

Results: We studied 14 blood samples obtained from healthy volunteers. There was positive apoB signal detected on the flowcytometer. Samples with anti-apoB antibodies showed significantly higher FITC signal than samples without anti-apoB antibodies ($p = 0.001$). These results were obtained for erythrocytes (1.79 ± 0.5 vs 0.5 ± 0.2 au) and leukocytes, showing granulocytes the highest FITC-signal (41.5 ± 4.1 vs 18.3 ± 3.4 au), followed by monocytes (6.3 ± 0.7 vs 1.8 ± 0.7 au), and lymphocytes (2.0 ± 0.3 vs 0.8 ± 0.1 au). These results were reproduced in different samples.

Conclusion: Our results confirm that apoB can bind to leukocytes and erythrocytes in humans. These results open the possibility of cellular transport as physiological transport system apoB in plasma as part of the lipoprotein transport system.

DESARROLLO METODOLÓGICO DE UN MODELO CELULAR IN VITRO PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA DE LA ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS NATURALES Y DE LA INSULINA

L. Pons, S. Fernández-Castillejo, U. Catalán, M. Heras, J. Girona, L. Masana y R. Solà

Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosis (CIBERDEM). CENIT. Hospital Universitari St. Joan de Reus. IISPV. Universitat Rovira i Virgili. Reus. Tarragona. España.

La disfunción endotelial es un proceso caracterizado por la disminución de la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), como consecuencia de una reducción de la actividad de la endotelial Nitric Oxide Synthase (eNOS). Esta disfunción aparece en la primera etapa de la patogenia de la aterosclerosis, contribuyendo a la iniciación y progresión de la placa.

Objetivo: Implementar y optimizar un test *in vitro* de screening rápido, preciso y exacto para evaluar la expresión de eNOS, generada por diferentes compuestos bioactivos naturales, en *Human Aortic Endothelial Cells* (HAEC).

Métodos: Se incuban las células HAEC al 100% de confluencia durante 24 h, con los compuestos a testar y se determina la expresión génica de la eNOS mediante *Real Time RT-PCR*. Los valores se analizan mediante el método matemático del $2^{\Delta\Delta Ct}$. Los resultados se presentan en unidades arbitrarias (UA).

Inicialmente, se ha estudiado el efecto de la Insulina a distintas concentraciones, conocido productor de eNOS, para establecerlo como control positivo del experimento. Las concentraciones de los compuestos a testar se seleccionan a partir de descartar la citotoxicidad, mediante un ensayo colorimétrico basado en la secreción de Lactato Deshidrogenasa (LDH).

La precisión del modelo se realiza mediante el cálculo de la desviación estándar (SD) y de los coeficientes de variabilidad intra e interensayo (CV). La exactitud se evalúa mediante el cálculo de la media del error estándar (SEM). Un incremento

de la expresión de eNOS indicaría una mejora de la función vascular.

Resultados: La insulina a 500 nM aumenta la expresión génica de la eNOS alrededor del 50% respecto el blanco de experimento ($p < 0,05$), coincidiendo con los resultados publicados¹⁻³. A partir del cálculo de la precisión, se ha obtenido un CV interensayo inferior a lo esperado en cultivos celulares; CV = 5,13 (< 10%) y una SD = 0,08 (UA). Para el estudio de la exactitud, se ha conseguido una SEM = 0,063 (UA). Los resultados de los compuestos están en fase de elaboración.

Conclusiones: La insulina puede ser considerada un buen control positivo para este modelo. Se ha conseguido un modelo celular *in vitro* que permite el estudio de la expresión de eNOS, como reflejo de la mejora de la función endotelial de los compuestos, de una forma rápida, precisa y exacta.

Bibliografía:

1. Kuboki K, King GL, et al. Regulation of Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene Expression in Endothelial Cells and In Vivo: A Specific Vascular Action of Insulin. *Circulation*. 2000;101:676-81.
2. Federici M, Consoli A, et al. G972 IRS-1 Variant Impairs Insulin Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Cultured Human Endothelial Cells. *Circulation*. 2004;109:399-405.
3. Fisslthaler B, et al. Insulin enhances the expression of the endothelial nitric oxide synthase in native endothelial cells: a dual role for Akt and AP-1. *Nitric Oxide*. 2003; 8(3):253-61.

ESTUDIO PRELIMINAR COMPARATIVO DE LOS MOVIMIENTOS DE CALCIO EN ARTERIAS MESENTÉRICAS HUMANAS DE PACIENTES JÓVENES, ADULTOS Y PACIENTES CON ATROSCLEROSIS O DIABETES: PAPEL DE LOS RESERVORIOS

J. Navarro-Dorado^b, M. Ramajo^b, S. Redondo^b, M.G. Alonso^a y T. Tejerina^a

^aDepartamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. ^bServicio de Cirugía II. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: La contracción del músculo liso vascular mediada por Ca^{2+} en pacientes jóvenes (< 40 años), pacientes adultos (> 65 años) y pacientes con patologías (aterosclerosis, diabetes) no se realiza por la misma vía de señalización. Mientras que en los jóvenes la contracción es mediada por oscilaciones de Ca^{2+} , en adultos se precisa una elevación transitoria inicial de los niveles de Ca^{2+} y el mantenimiento de la contracción tónica es debida a un mecanismo de señalización intracelular dependiente de Rho Kinasa (Okon et al 2005)

Objetivos: Nos propusimos estudiar con microscopía electrónica (ME) si existían diferencias en el almacenamiento/disponibilidad de Ca^{2+} en función de la edad y de las patologías de los pacientes. Estudiando la modificación de la cantidad de reservorios de Ca^{2+} disponibles: caveolas, retículo sarcoplásmico, mitocondria.

Métodos: Fragmentos de mesenterio procedentes de cirugía abdominal se fijaron en Paraformaldehído 4% + Glutaraldehído 2,5% en tampón cacodilato 0,1M frío. Se disecó la arteria mesentérica eliminando el tejido graso y conectivo, y se cortó en anillos de 1-2 mm (fijados 6 h). Se realizaron 5 lavados con tampón cacodilato cada 30 min, dejándolos toda la noche en tampón a 4°. Se realizó una postfijación con tetróxido de osmio 1% y ferrocianuro potásico 1,5 h en agua destilada, para posteriormente lavarlos con agua destilada (3 lavados de 10 min) y deshidratarlos en concentraciones crecientes de acetona 50, 60, 70, 80, 90, 95 (15 min) y 100 (3 lavados 10 min),

para luego infiltrarlos en resinas y dejarlos toda la noche en resina pura (TAAB 812 mix). Finalmente fueron enmoldados y llevados al centro de ME donde se cortaron con un microtomo de filo de diamante en secciones de 80 nm que se fijaron en gradillas de cobre. Se obtuvieron imágenes de cortes de VSMC mediante ME (Jeol., JEM-1010, Japón).

Resultados: Existe un mayor número de caveolas adheridas a las membranas de pacientes de menor edad en comparación con el número de caveolas que aparecen adheridas a las membranas de las VSMC de adultos. Así mismo, encontramos que las muestras provenientes de pacientes jóvenes presentaban un mayor número de reservorios de calcio (retículo sarcoplásmico, mitocondria, etc) respecto a los pacientes adultos, y que tanto en muestras de pacientes diabéticos como hipercolesterolémicos, independientemente de la edad del paciente, los resultados se asemejaban a los obtenidos en pacientes adultos.

Conclusión: Así, la cantidad de calcio que puede penetrar en la célula en la contracción es mayor en jóvenes que en adultos o pacientes con patologías, y por ello la contracción de VSMC en adultos se basa en mayor medida en la actividad de enzimas intracelulares.

Bibliografía:

Okon, et al, *Diabetes*. 2005;54(8):2415-23.

FABP-4 INDUCE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL A TRAVÉS DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA (IRS-1/PI3-KINASE/AKT/ENOS) EN HUVEC

G. Aragonès, J. Girona, A. Cabré, I. Lázaro, M. Heras y L. Masana

Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosis (CIBERDEM). Hospital Universitari St. Joan de Reus. IISPV. Universitat Rovira i Virgili. Reus. Tarragona. España.

La coexistencia de diferentes factores de riesgo cardiovascular como el síndrome metabólico, obesidad abdominal, dislipemia y resistencia a la insulina determina la aparición de disfunción endotelial. Recientes estudios muestran que las concentraciones plasmáticas de FABP4 se incrementan en estos estados.

Objetivo: Estudiar el efecto de FABP4 en la vía de señalización de insulina (IRS-1/PI3-kinase/Akt/eNOS) en Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC)

Métodos: Se utilizaron células HUVEC (Cascade Biologics) en fase 3 confluentes. Las células se incubaron durante 30 min con proteína FABP4 humana recombinante (BioVendor) (20-200 ng/ml) previa a la estimulación con insulina (Sigma) (100 nM) durante 30 min. Se obtuvieron extractos de proteínas totales utilizando el tampón RIPA con inhibidores de proteasas y cuantificados mediante Bradford. 20 µg de proteínas totales se procesaron mediante Western Blot para la detección de p-eNOS Ser¹¹⁷⁷, total eNOS, p-Akt Ser⁴⁷³ y total Akt (Cell Signaling Technology). En el medio de cultivo se cuantificó la producción de NO utilizando un kit comercial (Assay Designs)

Resultados: Los resultados muestran que el pretratamiento de HUVEC con insulina activa la fosforilación de eNOS en Ser¹¹⁷⁷ de una manera dosis dependiente (0,1-6 mM). La preincubación con FABP-4 durante 30 min mostró una disminución dosis dependiente (20-200 ng/ml) en la fosforilación de Akt (p-Akt Ser⁴⁷³) previa estimulación con insulina (100 nM) durante 30 min. La preincubación con FABP-4 durante 30 min mostró una disminución dosis dependiente (20-200 ng/ml) en la fosforilación de eNOS (p-eNOS Ser¹¹⁷⁷) previa estimulación con insulina (100 nM) durante 30 min sin modificación de la eNOS total, junto con una reducción en los niveles de NO liberados en el medio de cultivo.

Conclusiones: FABP4 induce disfunción endotelial interfiriendo en la producción de NO inhibiendo la activación de eNOS. FABP-4 podría ser una buena diana terapéutica en pacientes con Síndrome metabólico y resistencia a la insulina.

INDUCCIÓN DE APOPTOSIS CELULAR EN CULTIVOS IN VITRO BAJO EL EFECTO DE ESTATINAS

C. Recarte, E. Vilalta, E. Oliveros, D. Salor, O. Marín, M. Ferrer, M.V. Villalba, R. Salomón, Y. Álvarez, G. Álvarez, L. Álvarez-Sala y J. Millán

Departamento de Medicina y Unidad de Riesgo Cardiovascular y Lípidos. Laboratorio de Investigación Biomédica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Fundamentos: Algunos de los efectos celulares de las estatinas se deben a las alteraciones del citoesqueleto celular y que ello puede significar un cambio en la vida media de la célula. De esta forma, la biología de la pared vascular se puede ver afectada en presencia de una estatina circulante, de tal forma que los fenómenos implicados en el inicio, desarrollo y complicación de la placa de ateroma pueden estar influenciados por el fármaco.

Objetivos: Nos ha interesado conocer la influencia de distintas estatinas en distintos cultivos de células que participan en la formación de la placa de ateroma (endotelio, células musculares lisas, fibroblastos, y monolitos), muy especialmente aquellos efectos sobre la muerte celular por apoptosis habida cuenta de que un mayor o menor grado de apoptosis puede inducir modificaciones sustanciales en la composición de la placa ateromatosa que conduzcan a una mayor estabilidad de la misma o hacia la inestabilidad.

Material y métodos: Se han estudiado distintas estirpes celulares: células endoteliales (HMEC-1), células musculares lisas (TG/HA-VSMC), fibroblastos de amígdala, y monocitos circulantes. En presencia de una dosis inhibitoria 50 (DI50) de diferentes estatinas, determinada previamente, se ha comprobado la tasa de apoptosis de cada estirpe celular, mediante técnica de microscopía digital de intervalos (videointervalometría). Se han ensayado las siguientes estatinas: atorvastatina, pravastatina, simvastatina, y cerivastatina. Se han estudiado las distintas formas de apoptosis, y se han teñido las células apoptóticas por dos técnicas: fluorescencia con naranja de acridina/bromuro de etidio y marcado fluorescente de DNA con DAPI.

Resultados: La inducción de la apoptosis por las distintas estatinas se expresa siguiendo dos patrones. En el primero, las células sufren zeiosis, aparecen bullas, sufren parálisis, y posteriormente la lisis. En el segundo, las células se dividen primariamente para fusionarse después. Mediante videointervalometría se determinan las concentraciones de células apoptóticas (en células/mm³), con concentraciones fijas de atorvastatina (1.500 ng/ml), simvastatina (1.500 ng/ml), cerivastatina (95 ng/ml) y pravastatina (24.000 ng/ml). Las células más resistentes a las estatinas resultaron ser los fibroblastos, y las más sensibles, las células endoteliales, manteniendo una sensibilidad intermedia las células musculares lisas y los monocitos.

Conclusiones: Los efectos demostrados pueden tener una influencia en la evolución de la lesión ateromatosa, particularmente en la estabilización/desestabilización de la placa, lo que se puede acompañar de un menor/mayor riesgo de padecer un episodio agudo aterotrombótico. La muerte celular por apoptosis inducida por estatinas puede ser condicionante de modificaciones en la composición celular de la placa ateromatosa y,

por tanto, ser responsable de la mayor regresión o de la menor progresión de la misma.

INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO CELULAR INDUCIDA POR ESTATINAS EN CÉLULAS DE LA PARED ARTERIAL

C. Recarte, M.V. Villalba, O. Marín, M. Ferrer, E. Oliveros, D. Salor, R. Salomón, E. Vilalta, Y. Álvarez, G. Álvarez, L. Álvarez-Sala y J. Millán

Departamento de Medicina Interna y Unidad de Riesgo Cardiovascular y Lípidos. Laboratorio de Investigación Biomédica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Fundamentos: Aunque el efecto fundamental de las estatinas se orienta a disminuir los niveles de colesterol y muy particularmente de las lipoproteínas de baja densidad, se han estudiado algunos otros efectos que podrían ser independientes del efecto hipocolesterolemizante, y que se han conocido como efectos pleiotrópicos. Tales efectos pueden ser de interés por cuanto los beneficios clínicos obtenidos con estatinas son superiores a los que cabría esperar por su efecto reductor del colesterol. Algunos efectos pleiotrópicos se encuentran relacionados con modificaciones del comportamiento celular.

Objetivos: Hemos perseguido conocer los efectos in vitro de distintas estatinas sobre la proliferación celular de estirpes celulares que son protagonistas en el proceso aterogénico. Nos ha interesado conocer si las modificaciones inducidas en la proliferación celular son dependientes de la estatina utilizada o de las células consideradas.

Material y métodos: Se ha valorado el comportamiento celular in vitro a través de la determinación de la dosis inhibitoria 50 (DI50) de diferentes estatinas presentes en cultivos celulares. Las estatinas ensayadas han sido: atorvastatina, simvastatina, pravastatina, lovastatina y cerivastatina. Se han utilizado células musculares lisas (TG/HA-VSMC), endotelio (HMEC-1), fibroblastos procedentes de amígdala humana, y monocitos humanos. Se distribuían las muestras en placas de 96 pocillos empleando cultivos controles (sin estatina).

Resultados: En términos generales las células mostraron una menor sensibilidad a la inhibición de la proliferación cuando se ensayaba la pravastatina (DI50 entre 24.700 y 90.000 ng/ml). La cerivastatina resultó ser la que provocaba una mayor inhibición de la proliferación celular a menores concentraciones (DI50 entre 96 y 1.640 ng/ml) en todas y cada una de las células. El comportamiento celular fue distinto dependiendo de las células analizadas. Los monocitos resultaron ser las células más resistentes en las que la DI50 fue superior (DI50 entre 1.640 y 90.000 ng/ml) para cada estatina. Las células endoteliales resultaron ser las más sensibles (DI50 entre 96 y 24.700 ng/ml) a todas las estatinas. Los ensayos fueron repetidos en presencia de mevalonato comprobando que era capaz de revertir el efecto antiproliferativo de las estatinas.

Conclusiones: La inhibición de la proliferación celular inducida por las diferentes estatinas podría explicar, al menos en parte, algunos de los efectos conocidos como pleiotrópicos y que van más allá del descenso del colesterol plasmático. Sin embargo existe una gran variabilidad en tales efectos, y que se ha demostrado que es estatina-dependiente y célula-dependiente. El hecho de que tales efectos reviertan con mevalonato induce a pensar que pueden estar mediados por la disminución en la síntesis intracelular de colesterol, que es el mismo mediador que para la mayor expresividad de receptores de membrana para las LDL.

LA ATORVASTATINA MODULA LA EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES DE ESFINGOSINA 1-FOSFATO (S1P) E INCREMENTA LA EXPRESIÓN DE COX-2 Y LA LIBERACIÓN DE PROSTACICLINA EN RESPUESTA A HDL Y S1P

M. González-Díez, C. Rodríguez, M. Gentile, R. Rodríguez-Calvo, L. Badimon y J. Martínez-González

Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC).
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Objetivo: Las HDL incrementan la liberación de prostaciclina (PGI_2) de las células vasculares a través de la inducción de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), siendo la S1P el componente de las HDL responsable de dicho efecto. Varios estudios indican que un análogo de la S1P (FTY720) puede ejercer efectos vasoprotectores *in vivo*. Nuestro objetivo fue determinar si la atorvastatina modula la expresión de los receptores de S1P y de ese modo potencia la expresión de COX-2 y la liberación de prostaciclina inducida por las HDL y S1P (*in vitro*) y por el FTY720 (*in vivo*).

Materiales: Se realizaron estudios en células musculares lisas vasculares (CMLV) humanas y en ratones de la cepa C57/BL6J. Los niveles de mRNA de COX-2 y los receptores de S1P se analizaron mediante PCR a tiempo real. Los niveles de PGI_2 en los sobrenadantes de las células y en el plasma de ratones se determinaron mediante ensayo inmunoenzimático.

Resultados: La atorvastatina (10 μM) aumenta significativamente la inducción de COX-2 y la liberación de PGI_2 producida por HDL (30 mg/dL) y por S1P (0,1 μM) en CMLV en cultivo, e incrementa de forma dosis dependiente la expresión de los receptores S1P1 y S1P3. El efecto de la atorvastatina fue revertido por mevalonato (100 μM). La administración de atorvastatina (25 mg/kg/día) a ratones incrementó la expresión de COX-2 a nivel de la aorta y los niveles circulantes de PGI_2 . De modo similar, la administración de FTY720, 1 mg/kg produjo un aumento de la expresión de COX-2 a nivel de la arteria aorta y de los niveles circulantes de PGI_2 . *In vivo* se observó una tendencia a la alza (no significativa estadísticamente) en los niveles de expresión de S1P1 y S1P3 en respuesta a atorvastatina. Sin embargo, la combinación de ambos tratamientos no produjo efecto aditivo sobre ninguno de los parámetros analizados.

Conclusiones: La atorvastatina induce la expresión de los receptores de la S1P y potencia la expresión de COX-2 y la liberación de PGI_2 inducida por las HDL y por S1P *in vitro*. *In vivo*, en nuestras condiciones experimentales, la atorvastatina no potenció el efecto del FTY720.

MECANISMOS TRANSCRIPCIONALES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA LISIL OXIDASA POR HIPOXIA EN CÉLULAS ENDOTELIALES

J.F. Alcudia, J. Martínez-González, A. Guadall, R. Rodríguez-Calvo, O. Calvayrac, L. Badimon y C. Rodríguez

Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC).
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

Objetivo: La lisil oxidasa (LOX) es un enzima clave en la estabilización de la matriz extracelular que parece jugar un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del endotelio. La LOX podría participar en la respuesta adaptativa de las células endoteliales (CE) a la hipoxia. Nuestro objetivo ha sido determinar si la hipoxia modula la expresión de la LOX en CE y caracterizar los mecanismos implicados.

Métodos: La expresión de LOX en células endoteliales bovinas de aorta (BAEC) y humanas de vena de cordón umbilical (HUVEC) se determinó mediante PCR a tiempo real. La actividad

enzimática LOX se analizó mediante un método fluorimétrico de alta sensibilidad y la actividad transcripcional LOX a través de estudios de transfección transitoria. La formación de neovasos se analizó mediante estudios en Matrigel. El nivel de proteína del factor inducible por hipoxia-1alfa (HIF-1alfa) se determinó por *Western-blot*. Se realizaron estudios de retardación de la movilidad electroforética (EMSA) para evaluar la capacidad de interacción de proteína nuclear con el DNA. El RNA de interferencia (siRNA) contra HIF-1alfa se transfectó en CE por electroporación.

Resultados: La hipoxia (1% O_2) incrementó la expresión de LOX en células BAEC y HUVEC (aprox. 3 veces) en condiciones en las que este estímulo indujo los niveles de HIF-1alfa, la expresión de VEGF y la formación de neovasos. Este efecto se asoció a un aumento en la actividad enzimática LOX. Análogamente, la incubación de CE con dimetil oxal glicina (DMOG), inhibidor de prolil hidroxilasas, incrementó el nivel de mRNA de LOX. La inhibición de la transcripción con 5,6-dicloro-benzimidazol (DRB) previno este efecto, lo que sugiere la implicación de un mecanismo transcripcional. Delecciones del promotor mostraron que la regulación por hipoxia se produce a través de dos regiones, la más importante situada entre -900 y -400 pb y la segunda, situada en los primeros 130 pb que incluye el elemento de respuesta a hipoxia (HRE) previamente descrito. Sin embargo, la mutación de este HRE (posición -70) no fue capaz de contrarrestar la inducción de la actividad transcripcional causada por la hipoxia y los estudios de EMSA realizados con este elemento no evidenciaron que la hipoxia pudiera alterar la capacidad de unión a dicha sonda. De hecho, ni la rapamicina, inhibidor de mTOR, ni el bloqueo de HIF-1alfa mediante un siRNA específico fueron capaces de contrarrestar la inducción de la expresión de LOX causada por la hipoxia.

Conclusiones: Este estudio demuestra que la hipoxia induce la expresión y actividad LOX en células endoteliales a través de un mecanismo transcripcional en el que además de HIF-1alfa estarían implicados otros factores de transcripción.