
Increased reactive oxygen species production down-regulates peroxisome proliferator-activated a pathway in C2C12 skeletal muscle cells

El incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno regula a la baja la vía de PPAR α en células musculoesqueléticas C2C12.

A. Cabrero, M. Alegret, Rosa M. Sánchez, T. Adzet, Juan C. Laguna, Manuel Vázquez Carreras

J Biol Chem 2002;277:10100-7

La producción de especies reactivas de oxígeno puede contribuir a la patogenia de enfermedades que implican la acumulación intracelular de lípidos. Para explorar los mecanismos que producen estas enfermedades se analizó el efecto del etomoxir, un inhibidor de la carnitina palmitoiltransferasa I, que contiene una estructura derivada de ácido graso, en células de músculo esquelético C2C12. El tratamiento con etomoxir durante 24 h produjo una regulación a la baja en la expresión de ARNm del receptor activado por proliferadores peroxisómicos tipo α (PPAR α), alcanzándose una reducción del 87% de la citada expresión con una concentración de etomoxir de 80 mmol. Las concentraciones de ARNm de la mayor parte de los genes diana de PPAR α estudiados se redujeron con una concentración de etomoxir 100 mmol. Utilizando diferentes inhibidores de la síntesis *de novo* de ceramida y de ceramida C2 se demostró que no estaban implicados en los efectos de etomoxir. Es interesante constatar que la adición de triacolina, un potente inhibidor de la acil-CoA sintasa, a las células de músculo esquelético C2C12 pretratadas con etomoxir no previno la regulación a la baja de las concentraciones de ARNm de PPAR α , lo que sugiere que la forma activa del fármaco, el etomoxir-CoA, no se hallaba implicada en esta regulación. Dado que los ácidos grasos saturados pueden producir especies reactivas de oxígeno (ERO), se determinó si la adición de etomoxir inducía la producción de ERO. Etomoxir incrementó la producción de ERO y la actividad del conocido factor de transcripción dependiente del estado redox, NF- κ B. En presencia de pirrolidinditiocarbamato, un potente antioxidante e inhibidor de la actividad del NF- κ B, el etomoxir no reguló a la baja al ARNm de PPAR α de las células de músculo esquelético C2C12. Estos resultados indican que la generación de ERO y la activación de NF- κ B son responsables de la regulación a la baja de PPAR α y pueden proveer un nuevo mecanismo a través del cual se produce la acumulación intracelular de lípidos en las células de músculo esquelético.

COMENTARIO

La resistencia insulínica del músculo esquelético es una de las principales características de la diabetes mellitus tipo 2 (no dependiente de insulina), y aunque el mecanismo que subyace en este fenómeno está aún por esclarecer, en función de estudios realizados en humanos, en ratas y en células en cultivo, se ha asociado de forma preferente a un incremento del contenido de lípidos en dicho tejido. A su vez, el catabolismo de los ácidos grasos está regulado por el receptor α activado por proliferadores peroxisómicos (PPAR α). Este receptor se expresa en tejidos con un activo catabolismo de dichos ácidos grasos, incluido el músculo esquelético, donde se ha observado que su activación incrementa la expresión de enzimas que participan en la β -oxidación de ácidos grasos. De hecho, se conoce que estos cambios logran prevenir la obesidad inducida por la dieta y la resistencia insulínica. Por otro lado, la exposición del músculo esquelético de la rata a cantidades elevadas de ácidos grasos libres, que da lugar a incrementos en la concentración intracelular de acil-CoA y triglicéridos, produce resistencia insulínica.

Con el propósito de comprender mejor el mecanismo por el que se produce la acumulación de lípidos en las células musculares expuestas a ácidos grasos, los autores de este trabajo han utilizado células mioblásticas de la línea C2C12, las cuales en cultivo desarrollan características propias de células de la musculatura esquelética. Con el fin de lograr la acumulación de acil-CoA en estas células utilizan etomoxir, que tiene una estructura derivada de ácido graso saturado con un grupo oxirano y es un inhibidor irreversible de la carnitina palmitoil transferasa-I (CPT-I), y consecuentemente de la β -oxidación de los ácidos grasos.

El tratamiento de las células C2C12 con etomoxir durante 24 h redujo los valores de PPAR α . A su vez, los genes diana del PPAR α demostraron una respuesta bifásica al etomoxir, con pequeños incrementos de su expresión a bajas concentraciones y reducciones a altas concentraciones. Sin embargo, estos efectos no parecían estar mediados por la inhibición de la CPT-I, puesto que la inhibición en la síntesis de etomoxir-CoA, que es la forma activa del fármaco, no inhibió esos efectos. Esta parte del trabajo se realizó utilizando triacrina C, que es un potente inhibidor de la acil-CoA sintetasa, la cual es la enzima que cataliza la transformación de ácidos

grasos en acil-CoA y que, a su vez, cataliza la transformación de etomoxir en etomoxir-CoA.

En contraste con estos resultados negativos, los autores del trabajo demuestran que el tratamiento con etomoxir da lugar a la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y a la activación del factor nuclear κ B (NF- κ B). A su vez, en presencia de un potente antioxidante e inhibidor de la actividad del NF- κ B, el ditiocarbamato de pirrolidina (PDTC), el etomoxir no produjo la reducción de la expresión del PPAR α en las células C2C12 de músculo esquelético.

Estos resultados llevan a los autores a concluir que la producción de ERO y el incremento de actividad del NF- κ B que se produce tras el tratamiento con etomoxir son responsables de la reducción de la oxidación de ácidos grasos mediada por el PPAR α , que a su vez puede dar lugar a la acumulación intracelular de lípidos en las células musculoesqueléticas.

Este trabajo tiene un indudable interés para entender la patogenia de enfermedades que conllevan la acumulación intracelular de lípidos. En él se propone un nuevo mecanismo para explicar la acción negativa de la acumulación intracelular de lípidos en el músculo esquelético, que estaría mediada por la acción inhibidora de las especies reactivas del oxígeno y la activación del NF- κ B reduciendo la expresión del PPAR α . Sin embargo, y a pesar de la alta sofisticación de los parámetros evaluados, el estudio tiene algunas limitaciones que interesa también comentar. Por un lado, no se presenta ningún resultado que ponga de manifiesto la efectividad del etomoxir incrementando la concentración intracelular de ácidos grasos en las células C2C12; para ello, se debería simplemente haber analizado los ácidos grasos en ellas, y demostrar así que los resultados obtenidos estaban asociados realmente a una acumulación de los mismos. Hubiera sido también deseable algún experimento en el que las células se hubieran cultivado en medio suplementado con ácidos grasos, determinando su potencial acumulación intracelular, la producción de ERO y la expresión y actividad del PPAR α (ARNm y genes diana). A su vez, el modelo experimental utilizado se aleja mucho del planteamiento fisiopatológico del tema que se ofrece en la introducción del trabajo, y al menos habría sido también deseable la inclusión de algún experimento en el que se estudiara la respuesta insulínica de estas células en función de su mayor o menor acumulación de lípidos.

E. Herrera