

El ácido acetilsalicílico incrementa la expresión de CD36 en macrófagos THP-1 de forma independiente del receptor activado por proliferadores peroxisómicos gamma

M. Viñals, I. Bermúdez y J.C. Laguna

Unitat de Farmacologia. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona. Nucli Universitari de Pedralbes. Barcelona. España.

Introducción. El CD36 es un receptor cuya expresión se incrementa en la diferenciación de monocitos a macrófagos; desempeña un papel clave en la formación de la célula espumosa, y su expresión se ve incrementada por ligandos de proliferadores peroxisómicos gamma (PPAR- γ). Recientemente se ha descrito que la activación de PPAR- γ en macrófagos actúa paralelamente reduciendo la expresión de la enzima ciclooxigenasa e incrementando la expresión de CD36. El objetivo del presente trabajo ha sido determinar si la reducción en la producción endógena de prostaglandinas puede ser responsable de los cambios en la expresión de CD36.

Métodos. La expresión de CD36 se determinó por citometría de flujo en células THP-1 diferenciadas a macrófagos e incubadas en presencia o no de ácido acetilsalicílico (AAS), carbaprostaciclina (cPGI₂, agonista PPAR- α/β), 15-deoxi- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandina J₂ (15-d-PGJ₂, agonista PPAR- γ), prostaglandina E₂ (PGE₂) y antagonistas de PPAR- γ (BADGE y diclofenaco). La viabilidad celular se determinó por el método MTT.

Resultados. El AAS indujo, de forma dependiente del tiempo y la concentración, la expresión de CD36. La PGE₂ fue capaz de anular el efecto del AAS, mientras que la 15-d-PGJ₂ potenció su efecto. El antagonista de PPAR- γ , BADGE, no modificó el efecto del AAS.

Conclusiones. Los resultados de este trabajo indican que AAS produce un incremento de CD36 a través de un mecanismo dependiente de PGE₂ e independiente de PPAR- γ .

Palabras clave:

Ácido acetilsalicílico. CD36. Macrófagos. PPAR. Prostaglandinas.

ACETYLSALICYLIC ACID (ASA) INCREASES CD36 LEVELS IN THP-1 MACROPHAGES INDEPENDENTLY OF PEROXISOME PROLIFERATOR ACTIVATED RECEPTOR (PPAR- γ)

Background. CD36 is a receptor whose expression increases during monocyte differentiation to macrophages. It plays a key role in the formation of foam cells during atherosclerosis. Ligands of PPAR- γ have recently been reported to induce CD36 expression and to inhibit cyclooxygenase expression in macrophages. Our objective was to study whether reduction of endogenous prostaglandin production could modify CD36 expression in macrophages.

Methods. CD36 expression was measured by flow cytometry in THP1 cells differentiated to macrophages that had been incubated with acetylsalicylic acid (ASA) alone or in combination with carbaprostacyclin (cPGI₂, a PPAR- α/β agonist), 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ (15-d-PGJ₂, a PPAR- γ agonist), prostaglandin E₂ (PGE₂), and PPAR- γ antagonists (BADGE and diclofenac). Cell viability was assessed by the MTT method.

MV disfrutó de un contrato de reincorporación de doctores de la Generalitat de Catalunya (RED).

Correspondencia: Dra. M. Viñals.
Centre de Genetique Moleculaire-Bat 26. CNRS
Av. de la Terrasse. 91198 Gif-sur-Ivette. France.
Correo electrónico: mvinalsa@cgm.cnrs-gif.fr

Recibido el 21 de febrero de 2003 y aceptado el 2 de octubre de 2003.

Results. ASA time- and dose-dependently induced CD36 expression. PGE₂ completely abolished CD36 induction by ASA, while 15-d-PGJ₂ potentiated the effect of ASA on CD36 expression. PPAR- γ antagonists did not modify the effect of ASA.

Conclusions. The results of this study show that ASA increases CD36 levels by a PGE₂-dependent and a PPAR- γ -independent mechanism.

Key words:

Acetylsalicylic acid. CD36. Macrophages. PPAR. Prostaglandins.

Introducción

Los mecanismos inflamatorios desempeñan un papel central en la aterogénesis. Como en otras enfermedades inflamatorias, los leucocitos inflamatorios predominantes en la zona lesionada son los macrófagos¹. En la placa aterosclerótica, estos últimos contribuyen a la inflamación liberando mediadores, se convierten en células espumosas y fagocitan células que están sufriendo apoptosis².

El CD36 pertenece a la familia de los receptores *scavenger* de clase B, se expresa en macrófagos y tiene gran afinidad por las lipoproteínas nativas, como las lipoproteínas de alta y baja densidad (HDL y LDL, respectivamente) y modificadas, aunque también puede actuar como receptor para la trombospondina, el colágeno, los ácidos grasos, los fosfolípidos polianiónicos y las células apoptóticas. En lo que respecta a la transcripción se produce un aumento de la expresión de CD36 por fenómenos de adhesión, lipoproteínas nativas y modificadas (LDL oxidadas), colesterol celular, factor estimulador de colonias de macrófagos e interleucina (IL) 4. En cambio, su expresión se ve reducida por corticoides, el factor de crecimiento de transformación (TGF) β_1 y lipopolisacárido. Este patrón de regulación coincide con la idea de que el CD36 está regulado a la baja durante procesos inflamatorios³; por tanto, una modificación de la expresión del CD36 en macrófagos podría ser un aspecto importante de la respuesta inflamatoria y la aterogénesis, y podría tener un uso potencial en el tratamiento farmacológico de estos procesos.

Por otra parte, los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR) constituyen un tipo de receptores nucleares o factores de transcripción que modulan la expresión génica a través

de su unión a distintos ligandos^{4,5}; pertenecen a una familia compuesta de, al menos, 3 receptores nucleares, α , β y γ ⁶. En particular, el PPAR- γ se induce en monocitos al diferenciarse a macrófagos⁷ y su activación se ha relacionado con la homeostasis energética⁸, la diferenciación celular^{9,10}, la apoptosis¹¹⁻¹³, la respuesta antiinflamatoria¹⁴⁻¹⁶ y también muy directamente con el desarrollo de la placa aterosclerótica¹⁷. Asimismo, es muy interesante el hecho de que los monocitos/macrófagos tratados con ligandos de PPAR- γ y receptor retinoide X incrementan la expresión de CD36⁷.

Los antiinflamatorios no esteroideos del tipo ácido acetilsalicílico (AAS) son ampliamente utilizados en la clínica por sus propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas. La base molecular de su actividad es la capacidad de inhibir la enzima ciclooxigenasa (COX) y, por tanto, bloquear la producción de prostaglandinas¹⁸. Recientemente se ha descrito que la activación de PPAR- γ en macrófagos actúa paralelamente sobre la COX y el CD36, reduciendo la expresión de la primera y aumentando la expresión del segundo^{19,7}. En este sentido, podría ser posible que existiera un mecanismo que modificara los valores de expresión de este receptor cuando las concentraciones endógenas de prostaglandinas variaran. En concreto, el AAS, fármaco ampliamente utilizado en la terapia cardiovascular, podría ejercer una regulación en este receptor al reducir los valores de prostaglandinas. Los resultados de este trabajo indican que, efectivamente, a concentraciones terapéuticas en plasma (1-3 mM)¹⁸, e incluso inferiores (0,3-0,6 mM), el AAS produce un incremento del CD36 a través de un mecanismo dependiente de PGE₂. Dado que se ha demostrado que diversos antiinflamatorios no esteroideos pueden activar PPAR- γ ²⁰, así como algunas prostaglandinas, como 15-d-PGJ₂⁶, en este trabajo también se ha estudiado si el efecto del AAS podía estar mediado por PPAR- γ , y se ha concluido que la inducción de CD36 por AAS es un efecto independiente de PPAR- γ .

Material y métodos

Obtención de HDL

Las HDL se obtuvieron por ultracentrifugación secuencial de plasma humano procedente de extracciones de sangre de pacientes donantes realizadas en el Servicio de Hematología del Hospital Clínic de Barcelona. El plasma, a densidades comprendidas entre 1,063 y 1,21 g/l, se centrifugó en un rotor Beckman Ty65, tal como se ha descrito previamente²¹. Las HDL se recentrifugaron y dializaron, y se determinó su contenido proteico según el método de Bradford²².

Cultivo de macrófagos

Se mantuvieron células THP-1 (línea celular de leucemia monocítica humana, American Type Culture Collection [ATCC]) en medio de cultivo RPMI 1640 con L-glutamina (GibcoBRL) suplementado con un 10% de suero bovino fetal (Myoclon Super Plus FBS, Estados Unidos, GibcoBRL) inactivado (a 56 °C durante 45 min) y penicilina/estreptomina (10.000 unidades/ml [GibcoBRL], medio A), a 37 °C de temperatura y un 5% de CO₂ de atmosfera en incubador²³.

Para la diferenciación de monocitos a macrófagos, se lavaron las células con PBS (sin calcio, magnesio ni bicarbonato, GibcoBRL, tampón A) y se resuspendieron en un volumen adecuado de medio A para sembrar placas de 24 pocillos, a razón de 500.000 células/ml/pocillo. Inmediatamente antes de sembrar, se añadió a la suspensión celular 13-acetato 12-miristato de forbol (PMA, Sigma) disuelto en DMSO a una concentración final de 50 ng/ml, que se mantuvo durante 3 días para una total diferenciación de los monocitos a macrófagos. Pasados los 3 días se lavaron las células con tampón A y se incubaron durante un día con medio A en el incubador para su estabilización y recuperación del metabolismo²⁴.

MTT

Transcurridos los tiempos de incubación, se añadieron 100 µl de 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-5, 5-difeniltetrazolio (MTT, 5 mg/ml PBS) directamente en cada uno de los pocillos con 1 ml de medio de cultivo, y se incubaron a 37 °C durante 3 h. Seguidamente se aspiró el medio de cultivo y se añadió 1 ml de solución SDS/ácido acético/DMSO (100 g/l de SDS, 100 mmol/l de ácido acético en DMSO), preparada extemporáneamente, con el fin de solubilizar los cristales de formazano formados. La absorbancia se determinó a 570 nm en lector de microplacas (Bio-Rad 550). El resultado es directamente proporcional a la viabilidad celular y se expresa en porcentaje respecto a la absorbancia del control.

Citometría de flujo

Se lavaron los macrófagos con medio de cultivo RPMI 1640 y 10.000 unidades/ml de penicilina-estreptomina (medio B),

y se trataron con AAS en medio B a las concentraciones y a los tiempos indicados. Los distintos agonistas-antagonistas se añadieron 30 min después de la adición del AAS. Una vez transcurrido el tiempo de tratamiento se lavaron los macrófagos con tampón A estéril y se incubó cada pocillo con 0,5 ml de tampón A/0,5% BSA FAF (Sigma)/2 mM de EDTA (tampón B) durante 30 min. Se resuspendieron las células por pipeteo y se centrifugaron durante 10 min a 1.000 g y a 4 °C (Sigma 3K30). El sobrenadante se retiró por decantación y el pellet se resuspendió con 20 µl del anticuerpo anti-CD36 humano unido a ficoeritrina (Pharmingen). Se dejó incubar el anticuerpo durante 30 min a oscuras y en hielo. A continuación se lavaron las células con 1 ml de tampón B. Se centrifugaron 10 min a 1.000 g y a 4 °C, se deshechó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en tampón B. La fluorescencia de las células se determinó en el citómetro de flujo.

Para el estudio de la unión de las HDL (150 µg/ml) a macrófagos se marcaron las HDL con Alexa 488 (Molecular Probes Alexa 488 Protein Labeling Kit) como se describe previamente²⁵ y se incubaron en presencia o ausencia de AAS. La intensidad de la fluorescencia media de 8.000 macrófagos se utilizó para expresar los resultados experimentales.

Estadística

Los resultados se expresan en forma de media ± desviación estándar, como mínimo de 3 experimentos. Las diferencias estadísticamente significativas se establecieron por ANOVA y el test de Bonferroni para comparaciones *a posteriori* (GraphPad InStat, v. 3.00 para Windows 95, GraphPad Software, San Diego, Estados Unidos, www.graphpad.com).

Resultados

El AAS incrementa la expresión de CD36

En los macrófagos tratados con AAS la expresión de CD36 se incrementó de manera dependiente de la concentración de fármaco (fig. 1A) y del tiempo de incubación (fig. 1B). Teniendo en cuenta

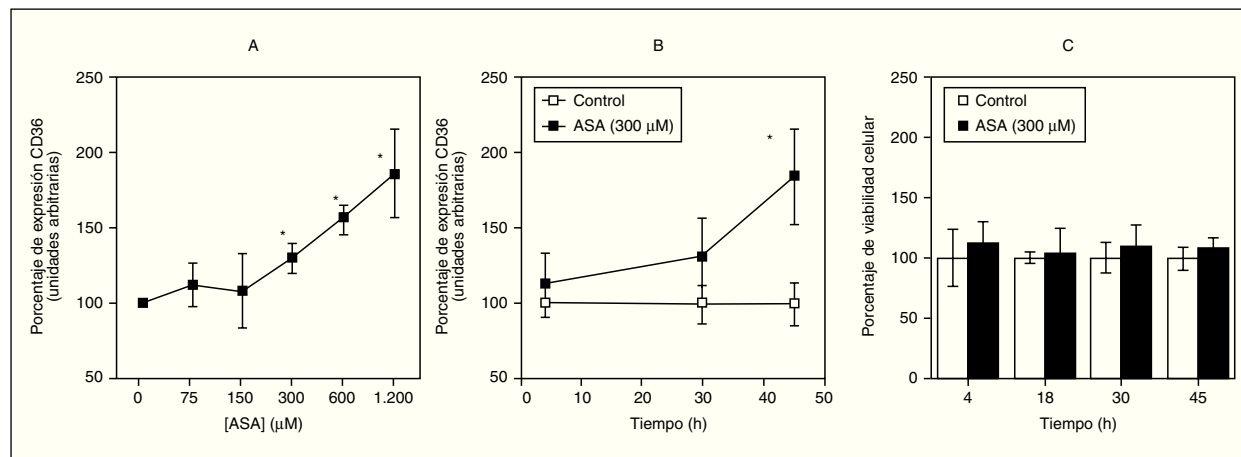


Figura 1. El AAS induce el CD36 sin alterar la viabilidad celular. Se estimularon macrófagos con distintas concentraciones de AAS durante 45 h (A) o en distintos tiempos con 300 µM de AAS (B) y se analizó la expresión de CD36 mediante incubación con anticuerpo CD36 ligado a ficoeritrina y determinación de la fluorescencia por citometría de flujo; C) la viabilidad celular determinada por la técnica del MTT se expresó como porcentaje respecto del control (100%). Los resultados se muestran como la media ± desviación estándar de, como mínimo, 3 experimentos. Los incrementos significativos se indican con asterisco. *p < 0,05.

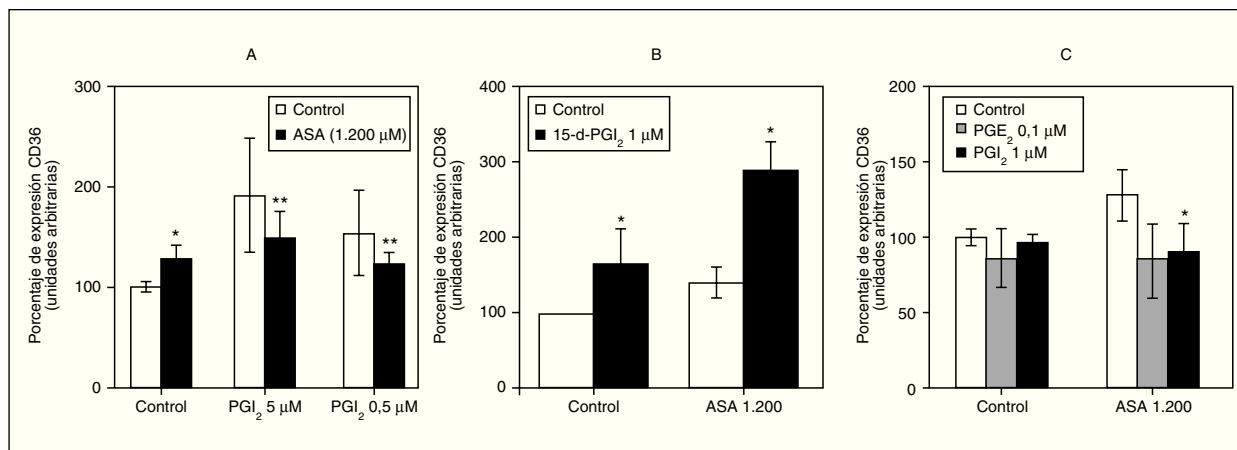


Figura 2. Efecto de cPGE₂ (5 y 0,5 μM), 15-d-PGEJ₂ (1 μM) y PGE₂ (1 y 0,1 μM) sobre la expresión de CD36. Las distintas prostaglandinas se añadieron a los macrófagos en tratamiento con AAS. Al cabo de 45 h, se analizó la expresión de CD36 mediante incubación con anticuerpo CD36 ligado a ficoeritrina y determinación de la fluorescencia por citometría de flujo. Los resultados se muestran como la media ± desviación estándar de, como mínimo, 3 experimentos. Los incrementos significativos respecto al control se indican con asterisco. *p < 0,05, **p < 0,01.

que las concentraciones plasmáticas del AAS a dosis terapéuticas se encuentran entre 1 y 3 mM¹⁸, la inducción de CD36 por parte de AAS se produjo a concentraciones muy bajas (300 μM). El incremento fue estadísticamente significativo a las 45 h (fig 1B). El ensayo de viabilidad celular (fig. 1C) evidenció que a ninguno de los tiempos ensayados existían diferencias entre las células tratadas y los controles, lo que sugiere que el citado efecto no estaba ligado a un incremento de citotoxicidad celular provocado por el AAS.

El incremento de CD36 producido por AAS se revierte en presencia de PGE₂

El efecto inductor del AAS podía ser causado, de forma indirecta, por la disminución en la concentración de alguna prostaglandina. Se incubaron los macrófagos con PGE₂ y 15-d-PGJ₂, metabolito de la PGD₂, para comprobar la posible mediación en el efecto observado de distintas prostaglandinas mayoritariamente liberadas en macrófagos o sus metabolitos²⁶, o con carbaciclina (cPGI₂), análogo de la PGI₂. La cPGI₂ (0,5 y 5 μM) aumentó los valores de CD36 (fig. 2A). El 15-deoxi-Δ^{12,14}-prostaglandin J₂ (15-d-PGJ₂) a 1 μM también incrementó los valores del receptor CD36. La adición de esta prostaglandina a los macrófagos tratados con AAS produjo un incremento sinérgico en los valores de CD36 (fig. 2B).

Cuando se trataron los macrófagos con PGE₂ (0,1 y 1 μM), los valores de CD36 no se modificaron. Los macrófagos tratados con AAS sufrieron

una reversión del efecto al ser tratados con PGE₂ a las 2 concentraciones probadas (0,1 y 1 μM) (fig. 2C). Estos resultados sugieren que el mecanismo de inducción del AAS está, al menos en parte, mediado por la inhibición en la síntesis de PGE₂.

El incremento de CD36 producido por AAS no se revierte al antagonizar PPAR-γ

El experimento con prostaglandinas no descartaba un posible efecto derivado de la activación de PPAR-γ por AAS en los macrófagos. Con el fin de descartar esta posibilidad, se utilizó diclofenaco, antagonista PPAR-γ e inhibidor de la COX²⁷, y BADGE, antagonista PPAR-γ²⁸, en las incubaciones con AAS y se determinó el porcentaje de expresión de CD36. Como muestran los resultados representados en la figura 3, la adición de BADGE a las células tratadas con AAS no indujo un aumento significativo de la expresión de CD36 en macrófagos. Por el contrario, sí que hubo un aumento significativo en las células tratadas con diclofenaco y AAS respecto a los tratados con AAS, debido probablemente al efecto acumulativo, ya que ambos son inhibidores de la COX. Estos resultados indicarían que AAS induce CD36 por un mecanismo independiente de PPAR-γ.

El tratamiento con AAS incrementa la unión de HDL a macrófagos humanos

Para determinar si el AAS tenía un posible efecto relevante sobre los receptores de HDL, se analizó si

la unión de las HDL estaba modificada por una concentración de 300 μ M de AAS en macrófagos a distintos tiempos. Como se muestra en la figura 4, el AAS incrementó el porcentaje de unión de Alexa-HDL a macrófagos a las 45 h, de forma similar al incremento de CD36.

Discusión

La formación de la lesión aterosclerótica es un mecanismo complejo compuesto de diversos procesos, entre los que se incluye la diferenciación de monocitos a macrófagos y una posterior acumulación de lípidos intracelularmente¹. La agregación de macrófagos cargados con colesterol o células espumosas es el primer indicativo, macroscópicamente, de formación de lesión aterosclerótica en la pared arterial. Aunque la secuencia de cambios morfológicos que caracterizan el proceso aterogénico está bien establecida²⁹, las señales bioquímicas y los circuitos implicados en la formación de la célula espumosa permanecen aún poco conocidos.

El CD36 es un receptor cuya expresión se incrementa en la diferenciación de monocitos a macrófagos⁷ y que desempeña un papel clave en la formación de la célula espumosa³⁰. Las prostaglandinas, metabolitos de la COX, intervienen en diversas etapas de la formación de la lesión aterosclerótica³¹ pero se desconoce su potencial efecto en la regulación del receptor del CD36. Así, un inhibidor de la COX como el AAS podría tener un papel modulador de la expresión de CD36.

Nuestros resultados demuestran que el AAS incrementó la expresión de CD36 en macrófagos humanos de manera dependiente de la concentración (fig. 1A) y del tiempo de incubación (fig. 2A). La determinación de la formación de formazano por el método conocido como MTT no se modificó por la presencia de AAS en el medio de cultivo celular (fig. 3). En consecuencia, la AAS origina un efecto específico en la expresión del receptor CD36, no ligado a citotoxicidad y que además coincide con un incremento en la unión de Alexa-HDL a macrófagos (fig. 4)

El efecto producido por AAS podría ser indirecto y atribuirse a la ausencia de una prostaglandina con un potencial efecto inhibitor en la expresión de CD36, o podría actuar como un activador de PPAR. Se probó el efecto de distintas prostaglandinas para determinar si revertían el efecto del AAS. Para ello se consideró un análogo de la PGI₂, la carbaprostaciclina, que podría actuar a la vez como agonista PPAR- β/α , 15-d-PGJ₂ que actuaría como agonista PPAR- γ y PGE₂, que carece de agonismo PPAR⁶. 15-d-PGJ₂ incrementó la expresión de CD36 (fig. 2B)

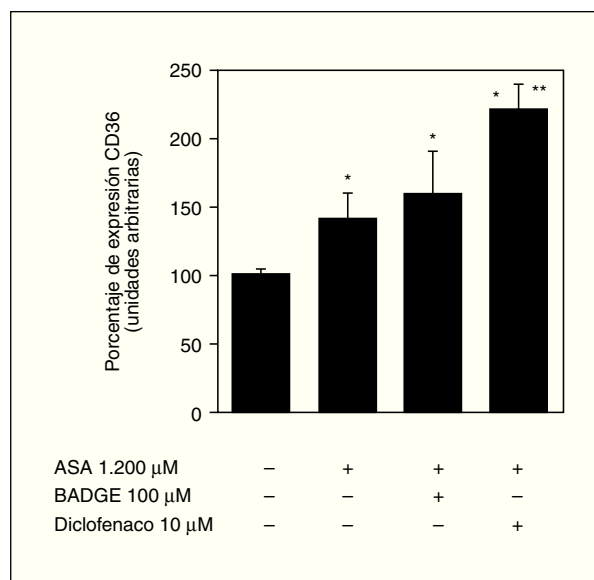


Figura 3. Efecto de los antagonistas PPAR- γ , BADGE (100 μ M) y diclofenaco (10 μ M) sobre la inducción de CD36 por AAS. Los distintos antagonistas se añadieron a los macrófagos en tratamiento con AAS. Al cabo de 45 h, se analizó la expresión de CD36 mediante incubación con anticuerpo CD36 ligado a ficoeritrina y determinación de la fluorescencia por citometría de flujo. Los resultados se muestran como la media \pm desviación estándar de, como mínimo, 3 experimentos. Los incrementos significativos se indican con asteriscos. *p < 0,05 respecto al control. ** p < 0,05 respecto al tratamiento con AAS.

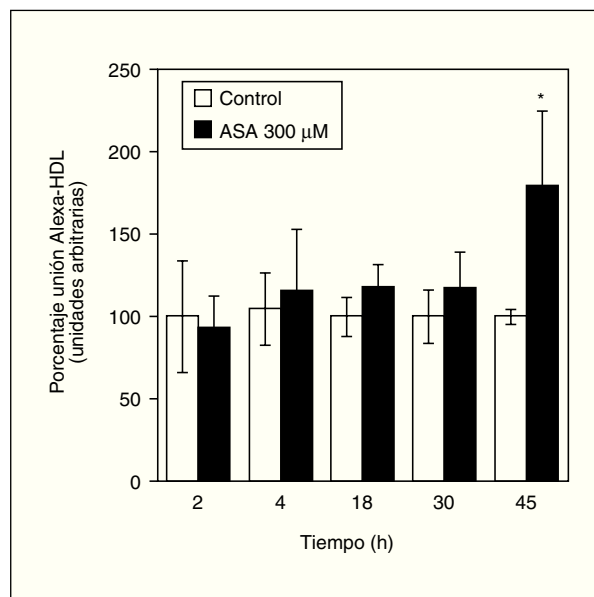


Figura 4. Efecto del AAS sobre el porcentaje de unión de Alexa-HDL a macrófagos. Se estimularon macrófagos con AAS (300 μ M) en presencia de HDL a distintos tiempos al cabo de los cuales se determinó el porcentaje de unión de Alexa-HDL por cuantificación de la fluorescencia por citometría de flujo.

como ya se ha descrito previamente^{32,33}. La adición de 15-d-PGJ₂ a las células tratadas con AAS aumentó la expresión de CD36. Sin embargo, el incremento de CD36 fue mayor que la adición de los efectos de inducción producidos por los 2 agonistas por separado. Este incremento sinérgico sugiere indirectamente que los 2 agonistas utilizan vías de señalización distintas y en consecuencia que el AAS no actuaría a través de un mecanismo PPAR- γ . De hecho se había descrito en experimentos previos que tanto el AAS como el salicilato sódico no son activadores PPAR- α o γ *in vitro*^{20,34}.

La carbaprostaciclina indujo la expresión de CD36. Así, no parece que el efecto del AAS esté mediado por la inhibición de la síntesis de prostaciclina. Además, los resultados concuerdan con experimentos previos que demuestran que los agonistas PPAR- α y β poseen un efecto inductor sobre este receptor^{7,35} (fig. 2B). A diferencia del agonista PPAR- γ utilizado, este análogo de la prostaciclina en combinación con el AAS no alteró significativamente el efecto de este último, lo que podría indicar que, en presencia de carbaprostaciclina, el AAS podría actuar como antagonista PPAR- α/β del receptor PGI₂, o de otras propiedades mediadas por PGI₂. El AAS podría poseer capacidades de agonista débil y comportarse como antagonista parcial, al competir con un agonista más potente pero de similar afinidad de unión. Por tanto, no se puede descartar un potencial agonismo α/β del AAS en estos receptores que causaría la inducción del CD36.

La PGE₂ no modificó la expresión de CD36. La inducción de CD36 producida por el AAS en macrófagos se eliminó con la adición de PGE₂ (fig. 2C). La falta de efecto de PGE₂ en ausencia de AAS puede deberse a la existencia de concentraciones endógenas saturantes. Estos datos indicarían que el efecto del AAS sobre CD36 podría ser mediado en parte a través de PGE₂. El efecto del AAS podría deberse a un efecto directo sobre la enzima, como ya se ha indicado, pero también a otro efecto sobre la transcripción de COX₂, isoforma expresada en condiciones basales en macrófagos^{36,37}. En particular, se ha descrito que el gen de la COX₂ posee un lugar de unión a NF- κ B³⁸, y que el AAS inhibe la activación de este factor de transcripción al inhibir la I κ B cinasa^{34,39}.

Para descartar definitivamente un potencial efecto directo sobre PPAR- γ , se incubaron macrófagos con AAS en combinación con 2 antagonistas PPAR- γ , BADGE (100 μ M)^{28,40} y diclofenaco (10 μ)²⁷. En la figura 3 se expone que el BADGE no modificó la expresión de CD36 inducida por AAS. En cambio, los valores celulares elevados de CD36 por el AAS se vieron

aumentados por la presencia del diclofenaco, que muy probablemente ocasionó este incremento por tratarse de un inhibidor de la COX. Así pues, como el BADGE (ligando sintético que se une al receptor pero no es capaz de transactivar genes vía PPAR- γ) no alteró los valores de CD36 modificados por el AAS, estos resultados sugieren que el AAS actúa sobre CD36 por un mecanismo independiente de la activación PPAR- γ , como ya indicaban los estudios de incubación con la prostaglandina agonista γ , 15-d-PGJ₂.

El efecto antiaterosclerótico del AAS⁴³ podría estar relacionado, en parte, con su capacidad de inhibir la producción de PGE₂. La PGE₂ es considerada como uno de los eicosanoides más aterogénicos⁴¹ secretada predominantemente en macrófagos⁴², que no están presentes en el tejido arterial normal. La inhibición de PGE₂ no sólo comportaría la expresión incrementada de CD36 sino que se vería reducida la expresión de metaloproteinasas 2 y 9 (MMP-2 y 9), enzimas que participan en la inestabilidad de la placa⁴⁴.

Sin embargo, la eliminación de CD36 protege contra la aterosclerosis en condiciones de deficiencia de Apo E45. Por tanto, se podría especular que el CD36 es aterogénico, que una expresión incrementada de CD36 estimula la captación de LDL oxidadas³⁰ y, por tanto, favorece la formación de células espumosas. Por tanto, el AAS ejerce aparentemente efectos contradictorios, protege contra la aterosclerosis⁴⁶ e incrementa la expresión de CD36. Por un lado, cabe la posibilidad que los efectos antiaterogénicos del AAS sean de mayor relevancia que los efectos proaterogénicos inducidos por el CD36 (captación de LDL oxidadas, etc.). Por otro, cabe otra posibilidad: que la inducción de CD36 pueda ser protectora contra la aterosclerosis bajo ciertas circunstancias, como por ejemplo la ausencia de LDL oxidadas que compiten con las células apoptóticas por CD36. Diversos hallazgos han demostrado que la inducción de apoptosis en la placa no sólo incrementa la aterosclerosis al inducir una respuesta inflamatoria exagerada, sino que también contribuye a la inestabilidad de la placa⁴². Otros datos sugieren que las señales mediadas por la unión de células apoptóticas a CD36 pueden ser responsables de efectos antiinflamatorios³. La unión de células apoptóticas a CD36 y su posterior captación podrían producir una estabilización de la placa, además de un efecto antiinflamatorio.

Estos hallazgos sugieren la posibilidad de que el AAS, actualmente disponible para uso clínico, pueda proveer una novedosa forma de terapia para la estabilización de placas en pacientes con enfermedad aterosclerótica y la prevención de la aparición de síndromes coronarios agudos.

Bibliografía

- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
- Steller H. Mechanism and genes of cellular suicide. *Science* 1995;267:1445-9.
- Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest* 2001;108:785-91.
- Meade EA, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Peroxisome proliferators enhance cyclooxygenase-2 expression in epithelial cells. *J Biol Chem* 1999;274:8328-34.
- Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000;405:421-4.
- Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 2000;129:823-34.
- Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JGA, Thomazy VA, Evans RM. PPAR γ promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 1998;93:241-52.
- Nolan JJ, Ludvik B, Beersden P, Joyce M, Olefsky J. Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N Engl J Med* 1994;331:1188-93.
- Tontonoz P, Singer S, Forman BM, Sarraf P, Fletcher JA, Fletcher CDM, et al. Terminal differentiation of human liposarcoma cells induced by ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the retinoid X receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:237-41.
- Mueller E, Sarraf P, Tontonoz P, Evans RM, Martin KJ, Zhang M, et al. Terminal differentiation of human breast cancer through PPARgamma. *Mol Cell* 1998;1:465-70.
- Bishop-Bailey D, Hla T. Endothelial cell apoptosis induced by the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) ligand 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2. *J Biol Chem* 1999;274:17042-8.
- Chang TH, Szabo E. Induction of differentiation and apoptosis by ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2000;60:1129-38.
- Tsubouchi Y, Sano H, Kawahito Y, Mukai S, Yamada R, Kohno M, et al. Inhibition of human lung cancer cell growth by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists through induction of apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;270:400-5.
- Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998;391:79-82.
- Su CG, Wen X, Bailey ST, Jiang W, Rangwala SM, Keilbaugh SA, et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR-gamma ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J Clin Invest* 1999;104:393-89.
- Kawahito Y, Kondo M, Tsubouchi Y, Hashiramoto A, Bishop-Bailey D, Inoue K, et al. 15-deoxy-delta(12,14)-PGJ(2) induces synovial cell apoptosis and suppresses adjuvant-induced arthritis in rats. *J Clin Invest* 2000;106:189-97.
- Vázquez-Carrera M, Laguna JC. Receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR) metabolismo energético y aterosclerosis. *Endocrinol Nutr* 2000;47:301-10.
- Gilman AG, Rall TW, Nies AS, editors. The pharmacological basis of therapeutic. 8th ed. New York: MacGraw-Hill, 1993.
- Liang YC, Tsai SH, Tsai DC, Lin-Shiau SY, Lin JK. Suppression of inducible cyclooxygenase and nitric oxide synthase through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma by flavonoids in mouse macrophages. *FEBS Lett* 2001;496:12-8.
- Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, Ringold GM, Kliewer SA. Peroxisome proliferator-activated receptors α and γ are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem* 1997;272:3406-10.
- Viñals M, Martínez-González J, Badimón JJ, Badimón L. HDL induced prostacyclin release in smooth muscle cells is dependent on cyclooxygenase-2 mRNA (Cox-2). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3481-8.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
- Auwerx J. The human leukemia cell line, THP-1: a multifaceted model for the study of monocyte-macrophage differentiation. *Experientia* 1991;47:22-31.
- Llaverías G, Jové M, Vázquez-Carrera M, Sánchez RM, Díaz C, Hernández G, et al. Avasimibe and atorvastatin synergistically reduce cholesterol content in THP-1 macrophages. *Eur J Pharmacol* 2002;45:11-7.
- Viñals M, Xu S, Vasile E, Krieger M. Identification of the N-linked glycosylation sites on the high density lipoprotein (HDL) receptor SR-BI and assessment of their effects on HDL binding and selective lipid uptake. *J Biol Chem* 2003;278:5325-32.
- Shade S, Bezugla Y, Kolada A, Kamionka S, Scheibe R, Dieter P. Diverse functional coupling of cyclooxygenase 1 and 2 with final prostanoïd synthases in liver macrophages. *Biochem Pharmacol* 2002;64:1227-32.
- Adamson DJA, Frew D, Tatoud R. Diclofenac antagonizes peroxisome proliferator-activated receptor gamma signaling. *Mol Pharmacol* 2002;61:7-12.
- Bishop-Bailey D, Hla T, Warner TD. Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) is a PPAR γ agonist in an ECV304 cell line. *Br J Pharmacol* 2000;131:651-4.
- Buja L, Kita T, Goldstein JL, Watanabe Y, Brown MS. Cellular pathology of progressive atherosclerosis in the WHHL rabbit. An animal model of familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis* 1983;3:87-101.
- Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, et al. Scavenger class A-II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem* 2002;277:49982-8.
- Masferrer JL, Needleman P. Antiinflammatories for cardiovascular disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:12400-1.
- Zuckerman S, Panousis C, Evans G. TGF-beta reduced binding of high-density lipoproteins in murine macrophages and macrophage-derived foam cells. *Atherosclerosis* 2001;155:79-85.
- Han S, Sidell N. Peroxisome-proliferator-activated-receptor gamma (PPARgamma) independent induction of CD36 in THP-1 monocytes by retinoic acid. *Immunology* 2002;106:53-9.
- Paik JH, Ju JH, Lee JY, Boudreau MD, Hwang DH. Two opposing effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the expression of the inducible cyclooxygenase. Mediation through different signaling pathways. *J Biol Chem* 2000;275:28173-9.
- Vosper H, Patel L, Graham TL, Khoudoli GA, Hill A, Macphie CH, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor delta promotes lipid accumulation in human macrophages. *J Biol Chem* 2001;276:44258-65.
- Masferrer JL, Zweifel BS, Seiber K, Needleman P. Selective regulation of cellular cyclooxygenase by dexamethasone and endotoxin in mice. *J Clin Invest* 1990;86:1375-9.
- Masferrer JL, Seiber K, Zweifel BS, Needleman P. Endogenous glucocorticoids regulate an inducible cyclooxygenase enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:3917-21.
- Tazawa R, Xu XM, Wu KK, Wang LH. Characterization of the genomic structure, chromosomal location and promoter of human prostaglandin H synthase-2 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;203:190-9.
- Kopp E, Ghosh S. Inhibition of NF-kappa B by sodium salicylate and aspirin. *Science* 1994;265:956-9.
- Wright HM, Clish CB, Mikami T, Hauser S, Yanagi K, Hiramatsu R, et al. A synthetic antagonist for the peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2000;275:1873-7.
- Fu JY, Masferrer JL, Seiber K, Raz A, Needleman P. The induction and suppression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem* 1990;265:16737-40.
- Cipollone F, Prontera C, Pini B, Marini M, Fazio M, De Cesare D, et al. Overexpression of functionally coupled cyclooxygenase-2 and prostaglandin E synthase in symptomatic atherosclerotic plaques as a basis of prostaglandin E(2)-dependent plaque instability. *Circulation* 2001;104:921-7.
- Cyrus T, Sung S, Zhao L, Funk CD, Tang S, Pratico D. Effect of low-dose aspirin on vascular inflammation, plaque stability, and atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation* 2002;106:1282-7.
- Corcoran ML, Stetler-Stevenson WG, DeWitt DL, Nahl LM. Effect of cholera toxin and pertussis toxin on prostaglandin H synthase-2, prostaglandin E2, and matrix metalloproteinases production by human monocytes. *Arch Biochem Biophys* 1994;310(2):481-8.
- Febbraio M, Podrez EA, Smith JD, Hajjar DP, Hazen SL, Hoff HF, et al. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest* 2000;105:1049-56.
- Paul A, Calleja L, Camps J, Osada J, Vilella E, Ferre N, et al. The continuous administration of aspirin attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Life Sciences* 2000;68:457-65.