

## Possible role of parathyroid hormone-related protein as a proinflammatory cytokine in atherosclerosis

Possible papel en la aterosclerosis de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea como citocina proinflamatoria

J.L. Martín-Ventura, M. Ortego, P. Esbrit,  
M.A. Hernández-Presa, L. Ortega y J. Egido.

Stroke 2003;34:1783-9.

**Antecedentes y propósito.** La proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PRPTH) es un péptido vasodilatador que, además, parece afectar al crecimiento vascular y ser un mediador de la inflamación en alteraciones reumáticas y del cerebro. Examinamos el posible papel de la PRPTH en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis.

**Métodos.** Analizamos por inmunohistoquímica, en 26 placas ateroscleróticas carotídeas humanas, la localización celular de la PRPTH, del receptor tipo 1 a PTH/PRPTH y de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1).

**Resultados.** La región inflamatoria de las placas, en relación con la cubierta, se caracterizó por una elevada inmunotinción para PRPTH, PTH1R y MCP-1 ( $0,75 \pm 0,1$  frente a  $0,29 \pm 0,04$ ;  $0,5 \pm 0,1$  frente a  $0,25 \pm 0,05$ ;  $0,72 \pm 0,2$  frente a  $0,29 \pm 0,05$ , respectivamente). En la placa, PRPTH (1-36) y MCP-1 colocalizaron tanto en células residentes como inflamatorias. Además, en células musculares lisas en cultivo (CMLC), la PRPTH incrementó el ARNm (3 veces a las 6 h) y la proteína (2,5 veces a las 24 h) de MCP-1. Este efecto fue inhibido tanto por la PRPTH (7-34) como por varios inhibidores de la proteíncinasa A, así como por el inhibidor del factor nuclear κB (NF-κB) partenolida. Además, la PRPTH (1-36) desencadenó un incremento de la activación de NF-κB en CMLC. La simvastatina, un inhibidor de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa, inhibió tanto la sobreexpresión de MCP-1 como la inducción de la actividad NF-κB, efectos que fueron revertidos por mevalonato.

**Conclusiones.** La PRPTH parece ser un nuevo mediador proinflamatorio de la lesión ateromatosa y puede contribuir a la desestabilización de las placas ateromatosas carotídeas. Nuestros datos proporcionan una nueva base racional para entender los mecanismos que participan en los efectos beneficiosos de las estatinas en la aterosclerosis.

### COMENTARIO

La inflamación es uno de los procesos característicos asociados a la aterosclerosis. En las lesiones vasculares se ha detectado la expresión de una enorme variedad de moléculas implicadas en los procesos inflamatorios (citocinas,

moléculas de adhesión). La regulación de la expresión de estas moléculas proinflamatorias es mediada por diferentes factores de transcripción, entre los que destaca el factor nuclear κB (NF-κB). La presencia de este factor de transcripción en estado activo se ha demostrado en la placa ateromatosa, razón por la cual la modulación de su actividad se ha propuesto como una opción terapéutica para interferir el desarrollo de la aterosclerosis<sup>1</sup>. Entre los fármacos hipolipemiantes que han demostrado su capacidad para inhibir la activación de NF-κB se encuentran los inhibidores de la HMG-CoA reductasa, las estatinas, que in vitro inhiben la expresión de genes proinflamatorios y la proliferación celular debido a su capacidad para inhibir NF-κB. Muchos de estos efectos son independientes de la síntesis de colesterol y parecen relacionarse con la inhibición de la síntesis de isoprenoides derivados de la vía del ácido mevalónico y la modificación postraslacional de determinadas proteínas<sup>2</sup>.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la participación de un péptido vasodilatador, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (parathyroid hormone-related protein [PTHrP]), en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis. Para ello, Martín-Ventura et al analizaron inicialmente la expresión de PTHrP y de su único receptor descubierto hasta ahora, el receptor tipo 1 de la PTH/PTHrP (PTH1R), en la arteria carótida de 26 pacientes sometidos a endarterectomía. El análisis de la expresión de estas proteínas por inmunohistoquímica demostró un incremento de sus valores de expresión en las zonas de las placas ateroscleróticas de las carótidas con un mayor contenido en células inflamatorias. Además, mediante estudios de colocalización se demostró la presencia de PTHrP y la proteína quimiotáctica para monocitos 1 (MCP-1) en las mismas células. Este hecho es interesante, puesto que la expresión de MCP-1 es inducida por estímulos que activan NF-κB, tales como la angiotensina-II<sup>2</sup>, que también es capaz de inducir la expresión de PTHrP en células musculares lisas vasculares. Todos estos datos sugerían que PTHrP desempeñaba un papel en el proceso inflamatorio asociado a la aterosclerosis. A partir de este punto, los autores del estudio intentaron establecer si la activación de NF-κB estaba implicada en la inducción de MCP-1 causada por PTHrP en las células musculares lisas vasculares. La utilización de inhibidores de NF-κB, junto con el empleo de ensayos de retroacción electroforética, permitieron demostrar a los autores la participación de NF-κB en la inducción de MCP-1 tras el tratamiento con PTHrP. Finalmente, dado que las estatinas son capaces de inhibir la actividad NF-κB y la expresión de MCP-1 se determinó si el tratamiento con estos fármacos era capaz de inhibir la inducción de MCP-1 causada por PTHrP. Como cabía esperar, el tratamiento con estatinas inhibió la inducción de MCP-1 causada por PTHrP. En resumen, en este interesante estudio sus autores establecen la participación en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis de un nuevo mediador y contribuyen a mejorar nuestros conocimientos sobre los mecanismos beneficiosos de las estatinas sobre este proceso. Para alcanzar estas conclusiones, los autores han

utilizado una metodología adecuada, iniciando sus estudios en lesiones ateroscleróticas y, posteriormente, estableciendo el mecanismo de acción implicado mediante la utilización de estudios *in vitro*. Finalmente, los autores completan el estudio describiendo una nueva acción de las estatinas que puede contribuir a sus efectos beneficiosos sobre la aterosclerosis. Así, este trabajo describe todos los puntos de interés de este nuevo mediador, desde la función de la PTHrP en las lesiones ateroscleróticas y los mecanismos implicados en estas acciones hasta los fármacos que pueden evitar su inducción. El trabajo es impecable, aunque quizás hubiera podido completarse con un pequeño estudio en un modelo animal de aterosclerosis tratado con estatinas, modelo en el que los autores ya poseen experiencia.

**M. Vázquez Carrera**

#### Bibliografía

1. Guijarro C, Egido J. Aterosclerosis e inflamación: papel central del factor de transcripción NF-κB. *Clin Invest Arterioscl* 2002;14:77-84.
2. Blanco-Colio LM, Ortego M, Martín-Ventura JL, Gómez-Hernández A, Tuñón J, Egido J. Inflamación, vulnerabilidad de la placa ateromatosa y estatinas. *Clin Invest Arterioscl* 2001;13:2-7.

## **Differential role of heparan sulfate proteoglycans on aggregated LDL uptake in human vascular smooth muscle cells and mouse embryonic fibroblasts**

*Papel diferencial de los proteoglucanos de tipo heparán sulfato en la incorporación de LDL agregadas en células musculares lisas de la pared arterial y en fibroblastos de embrión de ratón*

**V. Llorente-Cortés, M. Otero-Viñas y L. Badimon.**

*Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1905-11.

**Objetivo.** La proteína relacionada con el receptor (LRP) de lipoproteínas de baja densidad (LDL) une e internaliza LDL agregadas (LDLag) en células musculares lisas (CML) de la pared arterial. El objetivo es analizar la contribución de los proteoglucanos (PG) en la incorporación de LDLag en CML, en fibroblastos de embrión de ratón *wild type* (línea celular MEF) y en fibroblastos de embrión de ratón deficientes en LRP (línea celular PEA13).

**Métodos y resultados.** Se aislaron los PG del medio, de la fracción celular y de la matriz extracelular (ECM) por marcaje con  $^{35}\text{S}$ -Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se caracterizaron mediante digestión selectiva con heparinasa I y III (4 U/ml cada una) y condroitinasa ABC (2 U/ml). Para

analizar la contribución de los PG y LRP en la internalización de LDLag, células con y sin expresión de LRP, tratadas o no con polisacáridas se incubaron con LDLag (25, 50 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ) durante 18 h. En CML humanas, LDLag no induce el acúmulo de ésteres de colesterol (EC) en las células tratadas con oligonucleótidos antisentido para LRP, y la eliminación de heparán sulfato en los PG provoca una reducción de la acumulación de EC. En fibroblastos de ratón, la línea celular PEA13 comparada con la línea MEF presenta una menor pero todavía considerable acumulación de EC, y la eliminación de heparán sulfato inhibe completamente la acumulación de EC.

**Conclusiones.** En la línea MEF, los PG de tipo heparán sulfato pueden actuar como receptores que unen e internalizan LDLag en ausencia de LRP, en CML humanas, aunque los PG de tipo heparán sulfato facilitan la unión de LDLag a las células. La LRP es esencial para la internalización de LDLag.

#### **COMENTARIO**

*Por sus características, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son retenidas en el interior de la íntima arterial donde se modifican por procesos de oxidación, glucosilación y agregación, entre otros, por lo que adquieren una mayor carga negativa y pasan a ser partículas biológicamente activas y con actividad aterogénica. Es en el espacio pericelular entre las células endoteliales y musculares lisas de la íntima donde se encuentran los proteoglucanos (PG), uno de los principales componentes de la membrana y de la matriz extracelular (MEC). Existen 3 tipos de PG, según el tipo de cadenas de glúcidos que se unen a su proteína núcleo: dermatán, heparán y condroitín sulfato.*

*Los PG de condroitín sulfato (CSPG) contribuyen a la retención de lipoproteínas. Concretamente, el versicano induce alteraciones en las partículas de LDL que llevan a la formación de agregados de LDL (LDLag)<sup>1</sup>. En contraposición, los PG de tipo heparán sulfato (HSPG) pueden actuar como receptores para lipoproteínas o facilitando la incorporación de ligandos al receptor LRP (LDL related protein)<sup>2</sup>. Asimismo, son capaces de internalizar lipoproteínas unidas y mediar su catabolismo, aunque su velocidad de internalización sea mucho menor que la mediada por los miembros de la familia del receptor LDL<sup>3</sup>. Recientemente, se ha descrito que la formación de complejos LRP-PG regula la disponibilidad de HSPG en la membrana celular<sup>4</sup>.*

*En la lesión aterosclerótica los ésteres de colesterol (EC) intracelulares proceden principalmente de LDL modificadas, de ahí la importancia de estudiar qué sucede con la internalización de LDLag y qué elementos intervienen. Este estudio analiza alguno de estos aspectos. Los autores han demostrado previamente que la proteína LRP es la responsable de la internalización de LDLag en células musculares lisas (CML) de la pared arterial<sup>5</sup>. En el presente trabajo los autores indican que existe una diferencia inicial significativa en la composición de los PG en*