

PCC- $\beta$  como las principales causantes de la disminución de LOX, e indican que ambos procesos presentan mecanismos de regulación diferentes. Probablemente, será necesaria la sobreexpresión de las distintas isoformas de PCC por separado en estas células para conocer mejor la implicación de cada una de ellas.

Estudios previos ya han demostrado una conexión entre la LOX y otros factores de riesgo proaterogénicos relacionados con la alteración de la función endotelial, como son la hipercolesterolemia, la hiperhomocisteinemia y la diabetes mellitus. Por ejemplo, valores plasmáticos elevados de homocisteína disminuyeron la expresión de LOX en células endoteliales vasculares<sup>5</sup>. Igualmente, la expresión de LOX en células endoteliales porcinas se redujo como consecuencia de valores elevados de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL)<sup>6</sup>, incrementando de esta manera la permeabilidad endotelial y la susceptibilidad de la placa de ateroma a la ruptura. La lesión primaria en la aterosclerosis consiste en la acumulación lipídica en la lámina íntima y la formación de células espumosas por medio de la captación de LDL modificadas, incluidas LDL oxidadas (LDLox), por parte de macrófagos. El incremento de LDLox induce la expresión de moléculas de adhesión y la consiguiente unión de los leucocitos al endotelio. El hecho de que este proceso pueda prevenirse parcialmente mediante la adición de inhibidores de la PCC no hace sino confirmar el papel importante que tiene esta cinasa en el desarrollo de la disfunción endotelial.

En resumen, los resultados aquí descritos indican que los fármacos que permitan modular la hiperactivación de la PCC en células endoteliales podrían ser efectivos para la prevención o el tratamiento de la aterosclerosis. Este estudio resalta el papel importante que lleva a cabo la LOX como preservante de la función endotelial, e indica que ésta podría ser también una diana terapéutica potencialmente útil para el tratamiento de la aterosclerosis. No obstante, debe tenerse en cuenta que hay otras 4 proteínas similares y relacionadas con LOX, como son las conocidas como LOXL(1-4). Aunque todavía se desconoce si las distintas LOXL se expresan en células endoteliales y cuáles son sus sustratos o funciones específicas in vivo, hay la posibilidad de efectos compensatorios entre ellas por redundancia de función. En este caso, sería importante estudiar el comportamiento de las LOXL en situaciones en las cuales la expresión, y sobre todo la actividad LOX, se encuentran reducidas. Por otro lado, hay también un estudio, realizado en conejos alimentados con una dieta aterogénica rica en colesterol, en el que se observó un incremento de actividad LOX en regiones específicas<sup>7</sup>. Estas regiones donde se producía un incremento de LOX correlacionaban con la distribución y la gravedad de las lesiones aórticas, aunque se indicó que este aumento de actividad podría ser un efecto compensatorio como consecuencia de la lesión vascular<sup>1</sup>. Sea como fuere, son necesarios nuevos estudios para clarificar el papel de la LOX en relación con la placa de ateroma y su integridad posterior.

**Xavier Palomer**

## Bibliografía

1. Bank RA, Van Hinsbergh VW. Lysyl oxidase: new looks on LOX. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1365-6.
2. Rask-Madsen C, King GL. Proatherosclerotic mechanisms involving protein kinase C in diabetes and insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:487-96.
3. Koike N, Takamura T, Kaneko S. Induction of reactive oxygen species from isolated rat glomeruli by protein kinase C activation and TNF-alpha stimulation, and effects of a phosphodiesterase inhibitor. *Life Sci.* 2007;80:1721-8.
4. Frey RS, Rahman A, Kefer JC, Minshall RD, Malik AB. PKCzeta regulates TNF-alpha-induced activation of NADPH oxidase in endothelial cells. *Circ Res.* 2002;90:1012-9.
5. Raposo B, Rodríguez C, Martínez-González J, Badimon L. High levels of homocysteine inhibit lysyl oxidase (LOX) and downregulate LOX expression in vascular endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2004;177:1-8.
6. Rodríguez C, Raposo B, Martínez-González J, Casani L, Badimon L. Low density lipoproteins downregulate lysyl oxidase in vascular endothelial cells and the arterial wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1409-14.
7. Kagan HM, Raghavan J, Hollander W. Changes in aortic lysyl oxidase activity in diet-induced atherosclerosis in the rabbit. *Arteriosclerosis.* 1981;1:287-91.

## Generación de un modelo de hipertensión genético mediante la interacción de la hipoalfalipoproteinemia y la hiperhomocisteinemia leves

*Genetically based hypertension generated through interaction of mild hypoalphalipoproteinemia and mild hyperhomocysteinemia*

**Carnicer R, Navarro MA, Arbonés-Mainar JA, Arnal C, Surra JC, Acín S, Sarría A, Blanco-Vaca F, Maeda N y Osada J**

***J Hypertens.* 2007;25:1597-607.**

**Introducción.** La hiperhomocisteinemia y la hipoalfalipoproteinemia son 2 factores de riesgo conocidos para la enfermedad cardiovascular. Los efectos de la combinación sinérgica de estos 2 factores en la función vascular necesitan investigarse.

**Métodos y resultados.** Se utilizaron 4 grupos de ratones macho: un grupo control; un grupo de ratones heterocigotos deficientes en cistationina  $\beta$ -sintasa (hetCBS); un grupo de ratones heterocigotos deficientes en apolipoproteína (apo) A-I (hetA-I) y, finalmente, un grupo de ratones doble-heterocigotos (doble-het) con ambas deficiencias combinadas. Para caracterizar el fenotipo resultante, se analizaron distintos parámetros, incluidos apolipoproteínas plasmáticas, perfil lipídico, homocisteína y presión sanguínea. Tal como se esperaba, nuestros resultados indican que los ratones doble-het son un buen modelo para la hipoalfalipoproteinemia y la hiperhomocisteinemia leves. La combinación aditiva de los 2 facto-

res de riesgo resultó en un incremento de la presión sanguínea en comparación con los animales controles ( $136 \pm 8,0$  frente a  $126 \pm 7,5$  mmHg;  $p < 0,01$ ), que no se presentó en los otros 2 grupos. El incremento de la presión sanguínea se correlacionó con una reducción de los valores plasmáticos de óxido nítrico e hipertrofia ventricular izquierda, pero no con los valores de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, actividad paraoxonasa o cambios histológicos en el riñón. También se observó una reducción concomitante de los valores de apoA-IV y caveolina-1 en el grupo de ratones doble-het.

**Conclusiones.** Nuestros resultados indican un efecto aditivo adverso de la hipoalfalipoproteinemia y la hiperhomocisteinemia en la función endotelial que genera hipertensión clínica, además de hipertrofia cardíaca, en un proceso mediado por la desregulación del metabolismo del óxido nítrico.

## COMENTARIO

La principal consecuencia derivada de este trabajo es la obtención de un nuevo modelo de hipertensión moderada, a partir de la combinación sinérgica de 2 factores de riesgo cardiovascular, como son la hipoalfalipoproteinemia y la hiperhomocisteinemia, en un mismo animal (ratón doble-heterocigoto [doble-het]). Durante este estudio, se han comparado distintos parámetros bioquímicos y fisiológicos entre estos animales doble-het y ratones control o ratones heterocigotos simples, que presentan hipoalfalipoproteinemia (hetA-I) o hiperhomocisteinemia (hetCBS) por separado. Los ratones doble-het y hetCBS, como era de esperar, presentaban valores plasmáticos elevados de homocisteína (Hcy), aunque sólo los ratones doble-het mostraron hipertensión sistólica significativa, además de hipertrofia ventricular izquierda. Esto indica que la deficiencia en apoA-I y la hiperhomocisteinemia actúan de manera sinérgica para producir hipertensión. La Hcy es un aminoácido no proteico formado durante el metabolismo del aminoácido esencial metionina, en el ciclo de metilación<sup>1</sup>. La hiperhomocisteinemia altera la función endotelial<sup>2</sup> y, de hecho, es un factor de riesgo independiente para enfermedades arterioscleróticas cardiovasculares<sup>3,4</sup>. Los posibles mecanismos patogénicos, mediante los cuales la hiperhomocisteinemia puede causar estas enfermedades, están convergiendo cada vez más hacia la vía de la lesión oxidativa y la interacción con el metabolismo del óxido nítrico (NO). Valores elevados de Hcy estimulan la producción de especies reactivas de oxígeno por autooxidación, y estos radicales aumentan la producción de moléculas de adhesión en células endoteliales y reducen la disponibilidad de NO<sup>2</sup>. La Hcy también puede inducir la inactivación intracelular del sistema de defensa antioxidante del glutatión, y reducir la utilidad de vitaminas (vitamina C) o enzimas (superóxido dismutasa) antioxidantes. El NO, producido a partir de la L-arginina en una reacción catalizada por la NO sintasa, tiene actividad vasodilatadora y, por lo tanto, antihipertensiva. En condiciones normales, el endotelio atenúa los efectos adversos de la Hcy mediante la formación del complejo S-NO-Hcy.

En cambio, durante la patogenia de la enfermedad cardiovascular relacionada con la Hcy, se ha observado que el NO pierde actividad. Para evaluar si el incremento de presión sanguínea observado era mediado por cambios en la función de la sintasa de NO endotelial (eNOS), Carnicer et al determinaron los valores de nitritos en plasma, y vieron que sólo estaban reducidos en el grupo doble-het, lo que indicaba que era necesaria la interacción de ambas deficiencias para inducir un déficit de nitritos. Asimismo, en todos los grupos de ratones genéticamente deficientes, se observó que la proteína eNOS estaba disminuida en comparación con el grupo control. Esto indica que tanto el déficit de ApoA-I, como la hiperhomocisteinemia, reducen la expresión de eNOS de manera independiente, y proporciona una explicación para el efecto sinérgico observado exclusivamente en los animales doble-het. Los cambios encontrados en los valores proteicos de SR-BI y caveolina-1 probablemente reflejan un mecanismo compensatorio para mantener la acción del NO, pues ambas proteínas están implicadas en la regulación de la actividad eNOS. Otros mecanismos posibles, mediante los cuales la Hcy podría contribuir a la hipertensión, son la alteración de las propiedades elásticas de la pared vascular, o el incremento del estrés en el retículo endoplasmático, que induce la muerte de las células endoteliales<sup>2</sup>.

Recientemente, también se ha descrito una asociación entre la biosíntesis lipídica y la hiperhomocisteinemia, pues la Hcy activa la expresión génica de enzimas implicadas en la síntesis y la captación de colesterol y triglicéridos<sup>5</sup>. En consecuencia, la hiperhomocisteinemia podría contribuir parcialmente a la alteración del perfil lipídico en los ratones doble-het. Por ejemplo, la Hcy aumenta la expresión del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL)<sup>5</sup>. Sin embargo, el hecho de que, en estos ratones doble-het, la práctica totalidad del colesterol lo transporten partículas de lipoproteínas de alta densidad (HDL), y que la concentración plasmática de colesterol esté reducida, minimiza el efecto potencial en las LDL e impide probablemente el desarrollo de la arteriosclerosis. No obstante, aunque la hiperhomocisteinemia no provoque el desarrollo de arteriosclerosis en este modelo, es posible que sí estimule un perfil proinflamatorio, ya que la Hcy puede inducir la expresión de citocinas, como la proteína quimiotáctica para monocitos tipo 1 y la interleucina (IL) 8, quimiotáctiles para monocitos y neutrófilos, y moléculas de adhesión (molécula de adhesión vascular tipo 1) en células endoteliales.

El NO, que es producido en prácticamente todas las células humanas, también interviene en el metabolismo lipídico. Por ejemplo, el NO producido endógenamente induce la expresión del coactivador PGC-1 $\alpha$ , un regulador crucial de la fosforilación oxidativa y la biogénesis mitocondrial en diversos tipos celulares<sup>6</sup>. De esta manera, el NO puede estimular la oxidación de ácidos grasos y glucosa. En consecuencia, el bloqueo de la producción de NO incrementa el peso corporal y los triglicéridos plasmáticos en diversos modelos animales, aún sin variar la ingestión de alimentos<sup>6</sup>. El estudio de Carnicer et al no establece si se produce desarrollo de obesidad con el transcurso del tiempo, aspec-

to que podría ser interesante, especialmente en los animales doble-het. En caso de presentar obesidad, estos animales supondrían también un buen modelo para el estudio del síndrome metabólico y su tratamiento, debido a la coexistencia de distintos factores de riesgo. Por otro lado, en este estudio, los ratones doble-het y hetA-I mostraron valores inferiores de colesterol total y de HDL que los ratones control o hetCBS, aunque únicamente el grupo doble-het tenía hipotrigliceridemia significativa. Los ratones doble-het y hetA-I presentaban, como es lógico, valores reducidos de apoA-I, que se acompañaba en ambos casos de una reducción de apoA-II. ApoA-I interviene en el eflujo de colesterol y en la maduración de la partícula de HDL. Probablemente por este motivo, los animales con apoA-I reducida (doble-het y hetA-I) presentaron una reducción del colesterol unido a HDL (cHDL). Otros estudios realizados en ratones knockout deficientes en apoA-I ya habían demostrado con anterioridad una deficiencia de HDL. Por el contrario, la sobreexpresión de apoA-I en ratón incrementa el cHDL, previniendo la arteriosclerosis en modelos animales susceptibles a ella. La disminución de apoA-II en ratones hetA-I y doble-het sería consecuencia del déficit de HDL, ya que apoA-II es, junto con apoA-I, la apolipoproteína más abundante en estas lipoproteínas. Aunque la función fisiológica de apoA-II es menos clara, se ha visto que su sobreexpresión en ratones parece aumentar la actividad proinflamatoria de las partículas de HDL y la susceptibilidad a la arteriosclerosis, mientras que en ratones deficientes en apoA-II disminuye el perfil lipídico aterogénico. En el grupo doble-het también se observa un incremento de apoA-IV. Esta apolipoproteína se encuentra normalmente asociada a partículas HDL y a la fracción no lipoproteica en plasma en situación de ayuno, o a quilomicrones en situación posprandial. Su función principal parece ser la regulación de la actividad de la lipoproteína lipasa en los quilomicrones, pero también facilita el transporte reverso de colesterol. De hecho, los ratones transgénicos para la apoA-IV humana son menos susceptibles a desarrollar lesiones arterioscleróticas. Además de las apolipoproteínas, las HDL contienen otros componentes pro-

teicos con actividad enzimática, como son la lecitina-colesterol aciltransferasa, la proteína de transferencia de lípidos y la proteína transferidora de ésteres de colesterol. En consecuencia, la alteración del contenido en apoA-I puede modificar el metabolismo de las HDL y su actividad enzimática asociada, así como también la de los quilomicrones, donde apoA-I también se puede encontrar en pequeñas cantidades. Estos cambios enzimáticos podrían explicar las alteraciones en el contenido plasmático de los triglicéridos. En definitiva, este interesante estudio aporta nuevos datos acerca de los efectos bioquímicos y fisiológicos de la combinación de 2 factores de riesgo cardiovascular, la hipoalfalipoproteinemia y la hiperhomocisteinemia, y proporciona un nuevo modelo animal para el estudio de la hipertensión moderada.

## Xavier Palomer

### Bibliografía

1. Noga AA, Stead LM, Zhao Y, Brosnan ME, Brosnan JT, Vance DE. Plasma homocysteine is regulated by phospholipid methylation. *J Biol Chem.* 2003;278:5952-5.
2. Raposo B, Rodríguez C, Martínez-González J, Badimon L. High levels of homocysteine inhibit lysyl oxidase (LOX) and downregulate LOX expression in vascular endothelial cells. *Atherosclerosis.* 2004;177:1-8.
3. Souto JC, Blanco-Vaca F, Soria JM, Buil A, Almasy L, Ordonez-Llanos J, et al. A genomewide exploration suggests a new candidate gene at chromosome 11q23 as the major determinant of plasma homocysteine levels: results from the GAIT project. *Am J Hum Genet.* 2005;76:925-33.
4. Namekata K, Enokido Y, Ishii I, Nagai Y, Harada T, Kimura H. Abnormal lipid metabolism in cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem.* 2004;279:52961-9.
5. Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S, Hossain GS, Sood SK, Shi YY, et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J Clin Invest.* 2001;107:1263-73.
6. Fu WJ, Haynes TE, Kohli R, Hu J, Shi W, Spencer TE, et al. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr.* 2005;135:714-21.