

Regulación de la isoenzima PDK4 por el complejo Rb-E2F1

Regulation of the PDK4 isozyme by the Rb-E2F1 complex

Hsieh MCF, Das D, Sambandam N, Zhang MQ, Nahlé Z

J Biol Chem. 2008;283:27410-7.

La supresión del factor de transcripción E2F1 en ratones provoca un fenotipo metabólico complejo que se caracteriza por una reducción en la adiposidad y una resistencia mayor a la diabetes mellitus inducida mediante dietas ricas en grasas. En este trabajo se demuestra que E2F1 regula directamente el gen que codifica para PDK4 (piruvato deshidrogenasa cinasa 4). PDK4 es un sensor nutricional y un modulador de la homeostasis de la glucosa muy importante que se encuentra elevado crónicamente en la obesidad y la diabetes mellitus, y que se induce de manera aguda en situación de estrés metabólico por ayuno. Aquí demostramos que la pérdida de E2F1 in vivo disminuye la expresión de PDK4 y mejora la oxidación de la glucosa en el miocardio. La ausencia de E2F1 se corresponde con una reducción en los valores plasmáticos de glucosa, una mejora en el perfil lipídico y una sensibilidad a la insulina mayor. En consonancia con estos resultados, la expresión forzada de E2F1 aumenta los valores de expresión de PDK4 y suprime la oxidación de glucosa en mioblastos C₂C₁₂. Asimismo, la inactivación de retinoblastoma (Rb), un represor de la transcripción dependiente de E2F1, induce fuertemente PDK4 e incrementa la ocupación de E2F1 en el promotor de PDK4, hecho que se ha demostrado mediante análisis de inmunoprecipitación de cromatina. De hecho, se han identificado 2 sitios de unión de E2F1 superpuestos en este promotor. Ensayos posteriores de transactivación han confirmado la capacidad de respuesta de este promotor a E2F1 en mioblastos C₂C₁₂ y fibroblastos IMR90, un efecto que es completamente suprimido después de mutar los sitios de unión a E2F1. En conjunto, estos datos indican que el mitógeno E2F1 regula directamente los valores de PDK4, con lo que así ejerce una influencia directa en la bioenergética celular y, específicamente, en la oxidación mitocondrial de la glucosa. Estos resultados son importantes para la fisiopatología de enfermedades crónicas, como la obesidad y la diabetes mellitus, en las que PDK4 pierde su regulación, y podrían tener implicaciones importantes en relación con la etiología del metabolismo tumoral, especialmente en cánceres con defectos en la vía del Rb.

COMENTARIO

El complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDC) es un factor limitante clave en la oxidación de la glucosa en músculo cardíaco, ya que cataliza la descarboxilación irreversible del piruvato a acetil-CoA y, en consecuencia, controla la entra-

da del piruvato al ciclo del ácido cítrico. La fosforilación reversible de la PDC por parte de distintas cinasas (PDK1-4) inactiva el complejo, hecho que impide que el piruvato entre al ciclo del ácido cítrico y favorece, por tanto, la oxidación de los ácidos grasos en detrimento de la oxidación de la glucosa. PDK2 y PDK4 son las isoformas más abundantes en corazón y músculo esquelético, donde desempeñan un papel clave en la homeostasis de la glucosa. Así, por ejemplo, la sobreexpresión específica y constitutiva de PDK4 en corazón de ratón disminuye de manera muy significativa la oxidación de glucosa e incrementa el catabolismo de los ácidos grasos¹. En la actualidad, se conocen diferentes factores de transcripción cuya actividad puede regular la expresión de PDK4: FOXO1 (forkhead box O1), ERKα (receptor relacionado con estrógenos alfa) y los PPAR (receptores activados por proliferadores peroxisómicos)^{1,2}. No obstante, este interesante estudio demuestra que el gen que codifica para PDK4 también puede regularse directamente por el factor de transcripción E2F1, por medio de la unión de este último a 2 secuencias parcialmente solapadas presentes en la región promotora de PDK4.

Hasta ahora, los factores de transcripción E2F eran conocidos por su capacidad de regulación de la progresión del ciclo celular. En células quiescentes, las proteínas de la familia del retinoblastoma (Rb, p107 y p130) se unen físicamente a E2F e inhiben su actividad transcripcional, convirtiendo a E2F en represores transcripcionales^{3,4}. Al comienzo del ciclo celular, la activación de ciclinas dependientes de cinasas por parte de los factores de crecimiento provoca la fosforilación de Rb y su posterior liberación de E2F, que podrá entonces ejercer su actividad transcripcional. Los E2F se clasifican según su funcionalidad en E2F1-3, implicados en proliferación celular; E2F4 y E2F5, represores relacionados con la diferenciación, y E2F6-8, que son represores transcripcionales⁵. El subtipo E2F1, en concreto, es un regulador crítico de la supervivencia y la proliferación celular, ya que activa los genes de entrada a la fase S del ciclo celular y modula componentes de la fase G₂/M. Este trabajo de Hsieh et al indica que la reducción de E2F1 en ratones transgénicos bloquea la expresión de PDK4 y mejora la capacidad de oxidación de la glucosa cardíaca, y también mejora el perfil lipídico en plasma e incrementa la sensibilidad a la insulina. Por el contrario, el incremento forzado de E2F1 induce PDK4 y suprime la oxidación de la glucosa en mioblastos C₂C₁₂. Hsieh et al también demuestran que la inactivación de Rb induce de forma marcada PDK4 y enriquece la unión de E2F1 al promotor de PDK4. Diversos estudios anteriores ya habían indicado un papel potencial de E2F1 en el metabolismo, pues muchas células tumorales, la mayoría de las cuales tienen defectos en E2F1, muestran alteraciones en el metabolismo de la glucosa, con un fenotipo asociado a los tumores conocido como glucólisis aeróbica. Este trabajo no hace sino confirmar el mecanismo mediante el cual estos factores de transcripción pueden regular directamente el metabolismo cardíaco.

La mayoría de los miocitos cardíacos pierden su capacidad de división celular poco después del nacimiento, y permanecen en fase G₀/G₁ del ciclo celular⁶. En consecuencia, el creci-

miento cardíaco posnatal sucede principalmente por hipertrofia. En distintos modelos de hipertrofia cardíaca inducida en modelos murinos, se han observado cambios en los valores proteicos de diversos E2F, y se ha demostrado, por ejemplo, que la inhibición de E2F con péptidos específicos previene el desarrollo de la hipertrofia cardíaca⁵. Asimismo, aún cuando la hipertrofia cardíaca se encuentra en fase compensada o no patológica, es decir, sin alteración de la función cardíaca, se produce una reducción en la oxidación de los ácidos grasos, acompañada de un incremento de la oxidación de piruvato⁶. Esta reducción en la oxidación de ácidos grasos deriva, al menos en parte, de la alteración en la expresión de PPAR y de algunos de los genes regulados por éstos, entre los cuales destaca PDK4⁶. El corazón es un tejido que pierde su funcionalidad debido a la acumulación excesiva de lípidos como consecuencia de una oxidación menor de ácidos grasos, el cual es un fenotipo típico del corazón hipertrofiado. Esto es así porque se genera un exceso de distintos intermediarios lipídicos potencialmente tóxicos, como son el diacilglicerol y las ceramidas. Las ceramidas, por ejemplo, que en condiciones fisiológicas modulan el metabolismo energético celular y se relacionan con la regulación celular de la proliferación, diferenciación y apoptosis, se encuentran incrementadas en modelos de lipotoxicidad cardíaca, alteración de la señalización de la insulina e inflamación⁷.

Hay una relación muy cercana entre un estado de inflamación crónica y la hipertrofia cardíaca. Por ejemplo, la inducción de hipertrofia con fenilefrina o lipopolisacáridos (LPS) en distintos modelos celulares in vitro conlleva la activación del factor de transcripción nuclear proinflamatorio NF- κ B, ya que aumentan los valores de MCP-1, gen que está bajo control transcripcional de NF- κ B. Además, este aumento es reversible con el inhibidor de NF- κ B partenolida. Resulta interesante observar que la activación de NF- κ B ocurre de manera paralela a una reducción en la expresión de PDK4, lo cual refuerza la correlación entre activación de NF- κ B, disminución del catabolismo lipídico e hipertrofia. De la misma manera, el ácido graso saturado palmítico reduce la expresión de PDK4 y la oxidación de ácidos grasos. Todos estos estudios han demostrado que la inhibición de la expresión de PDK4 se produciría, al menos en parte, por la interacción física entre la subunidad p65 de NF- κ B y PPAR β/δ . No obstante, tal como se desprende del trabajo aquí comentado, no se debería descartar un papel potencial para E2F1. Esto es así porque hay evidencias de una relación entre NF- κ B y E2F1. Por ejemplo, se sabe que p65 puede seleccionar E2F1 y regular la actividad transcripcional de este último³. E2F1 interactúa físicamente con p50/p65 en células estimuladas con LPS, hecho que activa totalmente la transcripción de genes diana de NF- κ B⁸. Por otro lado, las cinasas IKK (I κ B cinasas), que fosforilan I κ B y provocan su degradación y posterior activación de NF- κ B, pueden inhibir la actividad transcripcional de E2F1-F3. El efecto mediado por IKK es independiente de Rb, pero requiere la presencia de p65, y parece que las IKK actuarían modificando de forma directa o indirecta la acetilación y fosforilación de E2F. Asimismo, se ha descrito que TNF- α inhibe la proliferación de fibroblastos y queratinocitos, además de reducir la expresión de genes diana de E2F en células endoteliales³, y se ha indicado que

probablemente TNF- α actuaría por medio de la vía IKK. En resumen, y a la vista de todos estos datos, sería interesante examinar la posible relación existente entre E2F y PDK4 en la desregulación del metabolismo que se produce durante la evolución de la hipertrofia cardíaca patológica.

Xavier Palomer

Bibliografía

1. Zhao G, Jeoung NH, Burgess SC, Rosaaen-Stowe KA, Inagaki T, Latif S, et al. Overexpression of pyruvate dehydrogenase kinase 4 in heart perturbs metabolism and exacerbates calcineurin-induced cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H936-H943.
2. Gerhart-Hines Z, Rodgers JT, Bare O, Lerin C, Kim SH, Mostoslavsky R, et al. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α . *EMBO J*. 2007;26:1913-23.
3. Araki K, Kawauchi K, Tanaka N. IKK/NF- κ B signaling pathway inhibits cell-cycle progression by a novel Rb-independent suppression system for E2F transcription factors. *Oncogene*. 2008;27: 5696-705.
4. Sellers WR, Novitch BG, Miyake S, Heith A, Otterson GA, Kaye FJ, et al. Stable binding to E2F is not required for the retinoblastoma protein to activate transcription, promote differentiation, and suppress tumor cell growth. *Genes Dev*. 1998;12:95-106.
5. Vara D, Bicknell KA, Coxon CH, Brooks G. Inhibition of E2F abrogates the development of cardiac myocyte hypertrophy. *J Biol Chem*. 2003;278:21388-94.
6. Akki A, Smith K, Seymour AM. Compensated cardiac hypertrophy is characterised by a decline in palmitate oxidation. *Mol Cell Biochem*. 2008;311:215-24.
7. Park TS, Hu Y, Noh HL, Drosatos K, Okajima K, Buchanan J, et al. Ceramide is a cardiotoxin in lipotoxic cardiomyopathy. *J Lipid Res*. 2008;49:2101-12.
8. Lim CA, Yao F, Wong JJ, George J, Xu H, Chiu KP, et al. Genome-wide mapping of RELA(p65) binding identifies E2F1 as a transcriptional activator recruited by NF- κ B upon TLR4 activation. *Mol Cell*. 2007;27:622-35.

Las vías inflamatorias son activadas durante la hipertrofia en cardiomiocitos y atenuadas por los receptores activados por proliferadores peroxisómicos PPAR α y PPAR δ

Inflammatory pathways are activated during cardiomyocyte hypertrophy and attenuated by peroxisome proliferator-activated receptors PPAR α and PPAR δ

Smeets PJH, Teunissen BEJ, Planavila A, De Vogel-van den Bosch H, Willemsen PHM, Van der Vusse GJ, Van Bilsen M

J Biol Chem. 2008;283:29109-18.

Diferentes trabajos publicados recientemente indican que la inflamación desempeña un papel importante en la hipertrofia y la insuficiencia cardíacas. Se ha descrito