

El papel esencial de la vía TGFβ/Smad en la regulación de las células de músculo liso vasculares dependiente de las estatinas

Essential role of TGF-beta/Smad pathway on statin dependent vascular smooth muscle cell regulation

Rodríguez-Vita J, Sánchez-Galán E, Santamaría B, Sánchez-López E, Rodrigues-Díez R, Blanco-Colio LM, Egido J, Ortiz A, Ruiz-Ortega M

PLoS One. 2008;3:e3959.

Antecedentes. Los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (también llamados estatinas) tienen efectos beneficiosos demostrados contra las enfermedades cardiovasculares. Datos recientes indican un papel protector para el factor de crecimiento transformante beta (TGFβ) en la aterosclerosis por la regulación del equilibrio entre inflamación y acumulación de matriz extracelular. Sin embargo, no hay estudios acerca del efecto de las estatinas en la vía TGFβ/Smad en células vasculares y en la aterosclerosis.

Metodología. Las estatinas aumentan la activación de la vía de Smad causada por el TGFβ en células musculares lisas vasculares en cultivo (VSMC). Además, las estatinas inducen la expresión del receptor TGFβ de tipo II (TRII) e incrementan la síntesis de TGFβ y las acciones dependientes del eje TGFβ/Smad. En este sentido, las estatinas, a través de la activación de Smad, incrementan la susceptibilidad de las VSMC a la apoptosis inducida por el TGFβ, así como la producción de ECM mediada por este factor. Es bien conocido que dosis altas de estatinas inducen apoptosis en VSMC en cultivo en presencia de suero; sin embargo, el mecanismo preciso implicado en este efecto todavía no ha sido establecido. Hemos observado que la apoptosis inducida por las estatinas está mediada por la vía TGFβ/Smad. Finalmente, hemos descrito que la inhibición de RhoA es un mecanismo intracelular común implicado en los efectos de las estatinas. La relevancia in vivo de estos hallazgos se analizó en un modelo experimental de aterosclerosis, el ratón deficiente en apolipoproteína E: el tratamiento con atorvastatina aumentó la fosforilación de Smad³ y la sobreexpresión de TRII, asociado a una elevada deposición de ECM en las VSMC de las placas de ateroma, mientras no se detectó apoptosis.

Conclusiones. Las estatinas aumentan la vía TGFβ/Smad mediante la regulación de los valores de ligando, del receptor, de las vías de señalización principales y de las respuestas celulares de las VSMC, incluyendo apoptosis y acumulación de ECM. Nuestros descubrimientos muestran que la vía TGFβ/Smad es esencial en las acciones de las estatinas sobre las VSMC.

COMENTARIO

La reducción de las concentraciones de colesterol plasmático mediante el uso de inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa o estatinas ha demostrado su eficacia en la prevención primaria y secundaria de la enfermedad cardiovascular¹. Sin embargo, el beneficio clínico de la terapia con estatinas va más allá de su efecto hipolipemiante y se ha relacionado con la capacidad de estos fármacos de tener efectos vasculares beneficiosos directos (los llamados efectos pleiotrópicos)². Diversos estudios han relacionado estos efectos con la capacidad de las estatinas de inhibir la síntesis de isoprenoides, en particular con la inhibición de GTPasas de la familia Rho. En el trabajo presentado por Rodríguez-Vita y colaboradores se describe cómo la activación del eje TGFβ/Smad, mediante la inhibición de la vía de RhoA/Rho cinasa, tiene un papel relevante en las acciones de las estatinas sobre la funcionalidad de las VSMC. Los autores muestran que en VSMC en cultivo las estatinas potencian la fosforilación de Smad 2 y 3 y la inducción de proteínas reguladoras de la ECM, como CTGF y PAI-1 causados por el TGFβ, así como incrementan la expresión del TGFβ y del receptor II para esta citocina. De hecho, los estudios desarrollados en el modelo de ratón deficiente en apolipoproteína E corroboran los resultados *in vitro*. En estos animales el tratamiento con atorvastatina reduce el tamaño de lesión y aumenta la fosforilación de Smad³ y la expresión del receptor TRII, un fenómeno destacable, ya que la expresión de este receptor en células procedentes de placas ateroscleróticas es prácticamente nula³. Por lo tanto, estos resultados indican que las estatinas promueven la reversión del fenotipo de las VSMC hacia un fenotipo normal. Asimismo, la atorvastatina incrementa los valores de expresión de PAI-I y colágeno I en la cubierta fibrosa, aspecto este último que se ha relacionado con la estabilización de la lesión aterosclerótica. Si bien el colesterol inhibe la vía TGFβ/Smad⁴, los autores descartan que el efecto hipocolesterolemiantre de la atorvastatina sea la causa de la regulación de esta vía, ya que las concentraciones de colesterol en los animales tratados continúan elevadas y los estudios *in vitro* indican la implicación de la inhibición de Rho GTPasas. Cabe destacar que el TGFβ participa en el mantenimiento de la estructura vascular. De hecho, la abolición de esta vía en modelos animales conduce a un incremento en la formación de lesiones en respuesta a estímulos proaterogénicos, así como da lugar a un fenotipo de placa más propenso a la rotura, mientras estrategias dirigidas a elevar la actividad de esta citocina previenen la formación de lesiones y promueven la transición a un fenotipo de placa estable⁵. Por lo tanto, estos datos indican que la inducción de la vía TGFβ/Smad en VSMC podría contribuir a los efectos vasculares beneficiosos de las estatinas al promover la deposición de matriz extracelular y limitar el desarrollo de lesiones. Un aspecto destacable de este estudio es la caracterización por primera vez del mecanismo implicado en la capacidad de las estatinas de inducir muerte celular por apoptosis en VSMC. El estudio pone en evidencia el papel que la vía TGFβ/Smad, a través de la inhibición de RhoA, tiene en este fenómeno. Sin embargo, ni en este ni en otros modelos de aterosclerosis se ha conseguido demostrar la presencia de

VSMC apoptóticas en la lesión y, por lo tanto, debe establecerse de forma más precisa la contribución de la apoptosis al desarrollo de aterosclerosis.

En resumen, el trabajo publicado por Rodríguez-Vita y colaboradores identifica un nuevo mecanismo por el cual las estatinas podrían modificar la funcionalidad vascular y contribuir a limitar la progresión de la lesión aterosclerótica.

Cristina Rodríguez

Bibliografía

1. Ehrenstein MR, Jury EC, Mauri C. Statins for atherosclerosis-as good as it gets? *N Engl J Med.* 2005;352:73-5.
2. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45:89-118.
3. McCaffrey TA, Consigli S, Du B, Falcone DJ, Sanborn TA, Spokojny AM, et al. Decreased type II/type I TGF-beta receptor ratio in cells derived from human atherosclerotic lesions. Conversion from an antiproliferative to profibrotic response to TGF-beta1. *J Clin Invest.* 1995;96:2667-75.
4. Chen CL, Liu IH, Fliesler SJ, Han X, Huang SS, Huang JS. Cholesterol suppresses cellular TGF-beta responsiveness: implications in atherogenesis. *J Cell Sci.* 2007;120:3509-21.
5. Grainger DJ. TGF-beta and atherosclerosis in man. *Cardiovasc Res.* 2007;74:213-22.

Papel de la metaloproteína de matriz 8 en la aterosclerosis

A role of matrix metalloproteinase-8 in atherosclerosis

Laxton RC, Hu Y, Duchene J, Zhang F, Zhang Z, Leung KY, Xiao Q, Scotland RS, Hodgkinson CP, Smith K, Willeit J, López-Otín C, Simpson IA, Kiechl S, Ahluwalia A, Xu Q, Ye S

Circ Res. 2009 Sep 10 [Epub ahead of print].

Antecedentes. Las lesiones ateroscleróticas expresan la metaloproteína de matriz (MMP) 8, la cual posee actividad proteolítica tanto sobre proteínas de matriz, particularmente colágenos fibrilares, como sobre otras proteínas como la angiotensina (Ang) I.

Objetivo. Hemos estudiado si la MMP8 tiene una función en la aterogénesis.

Métodos y resultados. La inactivación de la MMP8 en ratones deficientes en apolipoproteína E, susceptibles al desarrollo de aterosclerosis, comporta una reducción sustancial de la formación de lesiones ateroscleróticas. Los análisis inmunohistoquímicos muestran que las lesiones ateroscleróticas de los animales deficientes en MMP8 presentan un menor contenido en macrófagos y un incremento en el contenido de colágeno. Los animales deficientes en MMP8 presentan una reducción en las concentraciones de Ang II y en la presión sanguínea, en concordancia con los resultados obtenidos en ensayos in

vitro en los que se observa que la proteólisis de la Ang I por la MMP8 genera Ang II. Además, observamos que productos de la proteólisis de la Ang I mediada por la MMP8 incrementaron la expresión de la molécula de adhesión vascular (VCAM)-1 y que los ratones deficientes en MMP8 presentan una reducción en la expresión de VCAM-1 en las lesiones ateroscleróticas. Los estudios de microscopía intravital mostraron que en los animales deficientes en MMP8 disminuye el rodamiento y la adhesión de los leucocitos sobre el endotelio vascular. Asimismo, detectamos una asociación entre la variación génica de la MMP8 y el grado de aterosclerosis coronaria en pacientes con enfermedad coronaria. En un estudio poblacional prospectivo se observó también una relación entre la variación génica de la MMP8, la concentración plasmática de VCAM-1 y la progresión de la aterosclerosis. Conclusiones. Estos resultados indican que la MMP8 tiene un papel importante en la aterosclerosis.

COMENTARIO

Las metaloproteínasas de matriz (MMP) son enzimas que degradan componentes estructurales de la matriz extracelular, pero también llevan a cabo el procesamiento proteolítico de citocinas y factores de crecimiento y, por lo tanto, regulan su actividad biológica. Por todo ello, las MMP participan de forma activa en el remodelado vascular asociado a la aterosclerosis y, de hecho, múltiples MMP se han implicado en el desarrollo de la lesión, en el que curiosamente estas proteasas pueden tener papeles divergentes¹. La MMP8 procesa múltiples proteínas de matriz extracelular, particularmente colágeno I, y también proteínas no matriciales, como la Ang I. Esta MMP se sobreexpresa en células endoteliales, macrófagos y células musculares lisas de la lesión aterosclerótica² y sus concentraciones plasmáticas se asocian con la aterosclerosis y con un mal pronóstico cardiovascular³. En el estudio desarrollado por Laxton y colaboradores se pretende establecer si la MMP8 tiene un papel causal en la aterogénesis. Los autores observan que la inactivación de la MMP-8 reduce el grado de lesión aterosclerótica en ratones deficientes en apolipoproteína E bajo dieta rica en grasas, en los que se observa un menor infiltrado inflamatorio y un aumento en el contenido de colágeno I y, por lo tanto, promueve un fenotipo de placa más estable. Asimismo, disminuye el valor de Ang II, un efecto que estaría relacionado con la reducción en la proteólisis de Ang I derivada de la deficiencia en MMP8 y que se traduce en una menor presión sanguínea. La reducción en Ang II también se asocia a un valor más bajo de expresión de VCAM-1, hecho que no es sorprendente, ya que los estudios *in vitro* demuestran que la expresión de esta molécula de adhesión está regulada por la Ang II. De hecho, la disminución en VCAM-1 podría explicar, al menos en parte, el menor reclutamiento de leucocitos detectado mediante microscopía intravital en los animales deficientes en MMP8. Asimismo, los autores realizan un estudio de asociación en 2.000 pacientes con enfermedad coronaria en el que observan una asociación muy significativa entre el SNP rs1940475 de la MMP8 y el grado de