

seguida por estos y otros investigadores, conceptualmente muy sencilla, ha sido en muchos casos un análisis cualitativo y cuantitativo de las proteínas liberadas por muestras biológicas de arterias patológicas en relación con vasos control. Una de las características más singulares de los AAA es la presencia en la región dilatada de un trombo intramural (TIM). Utilizando una estrategia similar a la descrita anteriormente, en el presente trabajo el Dr. Martín-Ventura et al analizan las proteínas liberadas por fragmentos de diferentes capas del TIM, obtenido durante la intervención quirúrgica de los AAA, mediante un sistema de electroforesis bidimensional diferencial en gel (2D-DIGE), y proceden a su identificación mediante espectrometría de masas. De este modo identifican varias proteínas liberadas de forma diferencial por la capa luminal del trombo (biológicamente más activa) implicadas en procesos asociados con la fisiopatología de los AAA. Entre ellas destaca la peroxiredoxina-1 (PRX-1), proteína abundante en la capa luminal del trombo y que es liberada al medio por dicha capa de forma muy significativa. La PRX-1 se ha implicado en los mecanismos celulares antioxidantes, en particular en células como glóbulos rojos y leucocitos, neutralizando el peróxido de hidrógeno⁴. Su abundancia en el trombo puede reflejar una respuesta frente a la presencia de sustancias pro-oxidantes. En pacientes con AAA los valores de PRX-1 estaban significativamente aumentados respecto a los controles, y lo que resulta más interesante, sus valores se correlacionaron positivamente con el diámetro del AAA. En una cohorte de 80 pacientes del estudio Viborg seguidos durante un periodo de 5 años pudo constatar que también correlacionan con la evolución (tasa de crecimiento anual) del AAA.

En conclusión, en casos como el AAA —patología que evoluciona silenciosamente y cuyo inicio en forma de disección

de la pared aórtica es en muchos caso fatal— se necesita un panel de biomarcadores que permitan una detección precoz y ayuden tanto a estratificar el riesgo como a predecir la evolución clínica. En este sentido, la estrategia puesta en marcha por el grupo de la Fundación Jiménez Díaz, en colaboración con otros grupos a escala nacional e internacional, es sin duda novedosa y ya ha generado diversos candidatos cuyo potencial como biomarcador debe tenerse en cuenta y explorarse con más detalle en el futuro.

Bibliografía

1. Sakalihasan N, Limet R, Defawe OD. Abdominal aortic aneurysm. *Lancet*. 2005;365:1577–89.
2. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Muñoz-García B, Orbe J, Páramo JA, Michel JB, et al. Identification of soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) as a possible biomarker of subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:916–22.
3. Martín-Ventura JL, Duran MC, Blanco-Colio LM, Meilhac O, Leclercq A, Michel JB, et al. Identification by a differential proteomic approach of heat shock protein 27 as a potential marker of atherosclerosis. *Circulation*. 2004;110:2216–9.
4. Neumann CA, Krause DS, Carman CV, Das S, Dubey DP, Abraham JL, et al. Essential role for the peroxiredoxin Prdx1 in erythrocyte antioxidant defence and tumour suppression. *Nature*. 2003;424:561–5.

José Martínez-González

Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC),
IIB-Sant Pau, Barcelona, España

Correo electrónico: jmartinez@csic-iccc.org

doi:10.1016/j.arteri.2011.06.008

La deficiencia en P19^{ARF} reduce la apoptosis de macrófagos y células musculares lisas vasculares y agrava la aterosclerosis

González-Navarro H, Abu Nabah YN, Vinué A, Andrés-Manzano MJ, Collado M, Serrano M, Andrés V. P19^{ARF} deficiency reduces macrophage and vascular smooth muscle cell apoptosis and aggravates atherosclerosis. *J Am Col Cardiol* 2010; 55: 2258–68

Antecedentes: La aterosclerosis se caracteriza por un aumento de la proliferación y de la apoptosis, dos procesos celulares regulados por *CDKN2A*. Aunque estudios recientes de asociación de genoma completo han vinculado la enfermedad aterosclerótica con una región del cromosoma humano 9p21 próximo al locus *CDKN2A*, todavía no se han establecido los mecanismos que subyacen a esta asociación gen-enfermedad, ni se ha determinado el vínculo causal entre *CDKN2A* y la aterosclerosis.

Objetivos: El objetivo de este estudio fue investigar el papel en la aterosclerosis de la proteína supresora de tumores ARF (p14^{ARF} en humanos, p19^{ARF} en ratón) codificada por el gen *CDKN2A*.

Métodos: Ratones susceptibles a aterosclerosis (deficientes en apolipoproteína E, apoE) y ratones deficientes en apoE y p19^{ARF} (apoE-p19^{ARF}) fueron alimentados con una dieta aterogénica y sacrificados para cuantificar el nivel de aterosclerosis en el conjunto de la aorta y en secciones aórticas transversales. Se analizó la proliferación y la apoptosis en lesiones ateroscleróticas y en cultivos primarios de macrófagos y células musculares lisas vasculares obtenidos de ambos grupos de ratones.

Resultados: En ratones deficientes en apoE al anular p19^{ARF} aumenta la aterosclerosis en la aorta sin que se vean modificados el peso corporal, las lipoproteínas plasmáticas o la actividad proliferativa de la placa. Es de destacar que la deficiencia de p19^{ARF} atenúa significativamente la apoptosis tanto en las lesiones ateroscleróticas como en los cultivos de macrófagos y células musculares lisas vasculares, dos de los principales componentes de las placas ateromatosas.

Conclusiones: Nuestros resultados establecen un vínculo directo entre p19^{ARF}, la apoptosis de la placa y la aterosclerosis y sugieren que en humanos variantes

genéticas asociadas con una menor expresión de *CDKN2A* pueden acelerar la aterosclerosis a través de una disminución de la apoptosis en la placa.

Comentario

En la aterosclerosis se produce un aumento a nivel de la íntima arterial de dos procesos antagónicos como son la proliferación y la apoptosis que afectan a los dos principales tipos celulares implicados en las lesiones ateroscleróticas: monocitos-macrófagos y células musculares lisas vasculares (CMLV). Las consecuencias fisiopatológicas de la proliferación y/o apoptosis en monocitos-macrófagos versus CMLV son absolutamente contrapuestas, prevaleciendo el crecimiento y la inestabilización de la placa cuando se produce un balance a favor de la proliferación de monocitos-macrófagos frente a apoptosis de las CMLV, principal componente de la cubierta fibrosa. Una serie de proteínas supresoras de tumores, entre las que se encuentra ARF, constituyen la principal defensa antioncogénica de los mamíferos¹. ARF es una de las dos proteínas que se genera a partir del gen *CDKN2* a través de un marco de lectura alternativo. El peso molecular de ARF en humanos es de 14 kDa (p14^{ARF}), frente a los 19 que tiene en el ratón (p19^{ARF}). ARF parece ejercer un efecto proapoptótico vía inhibición de MDM2, una ligasa que desestabiliza al supresor de tumores p53¹. Estudios de asociación de genoma completo (*genome-wide association studies*, GWAS) con miles de controles y pacientes han identificado una serie de polimorfismos en una región del cromosoma 9p21 próximo al locus *CDKN2A* que se han vinculado con un alto riesgo de sufrir aterosclerosis así como cardiopatía isquémica, infarto de miocardio e ictus isquémico^{2,3}. Sin embargo, hasta el momento no se ha establecido una relación causal que vincule al gen *CDKN2A* y la proteína ARF con la aterosclerosis. Este ha sido precisamente el objetivo del trabajo de González-Navarro et al, para el que han utilizado un modelo murino deficiente en p19^{ARF} cruzado con animales a los que también se ha privado de la apoproteína apoE para hacerlos susceptibles a aterosclerosis. El principal resultado del trabajo es que al administrar una dieta aterogénica (rica en colesterol y grasa saturada), aunque en ambos grupos (apoE^{-/-} versus apoE^{-/-}/p19^{ARF}^{-/-}) aumentan de forma similar los valores circulantes de colesterol y de triglicéridos, en los animales

que carecen de ARF el desarrollo de aterosclerosis se agrava de forma muy significativa. En estos animales se aprecia un aumento de la extensión de las lesiones, sobre todo a nivel de la raíz aórtica y del arco aórtico. En las lesiones, sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas en el contenido de macrófagos, CMLV o de colágeno. El principal efecto diferencial observado *in vivo* fue una menor proporción tanto de macrófagos como de CMLV apoptóticas en las lesiones de los animales carentes de ARF. La menor susceptibilidad de las células deficientes en ARF a la apoptosis se corroboró en cultivos de macrófagos derivados de médula ósea y CMLV a los que se expuso a diferentes estímulos pro-apoptóticos (incluida la irradiación con luz UV, o tratamiento con altas concentraciones de colesterol libre o de un donador de óxido nítrico).

En resumen, en este estudio del grupo del Dr. Vicente Andrés se demuestra que, mediante sus funciones anti-apoptóticas, ARF puede desempeñar un papel en la susceptibilidad a desarrollar aterosclerosis. Estos datos experimentales aportan la prueba que relaciona causalmente *CDKN2A* (gen que codifica para ARF) con el desarrollo de aterosclerosis, prueba funcional que refuerza el papel que en el desarrollo de aterosclerosis y sus complicaciones clínicas en humanos pueden desempeñar variantes genéticas de *CDKN2A*.

Bibliografía

1. Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. *Cell*. 2006;127:265–75.
2. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS. WTCCC and the Cardiogenics Consortium. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2007;357:443–53.
3. Helgadóttir A, Thorleifsson G, Magnusson KP, Grétarsdóttir S, Steinhórsdóttir V, Manolescu A, et al. The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm. *Nat Genet*. 2008;40:217–24.

José Martínez-González

Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC), IIB-Sant Pau, Barcelona, España

Correo electrónico: jmartinez@csic-iccc.org

doi:10.1016/j.arteri.2011.06.009