

El microRNA-758 regula el eflujo de colesterol a través de la represión post-transcripcional del transportador ATP binding cassette Transporter A1

Ramirez CM, Dávalos A, Goedeke L, Salerno AG, Warrier N, Cirera-Salinas D, Suárez Y, Fernández-Hernando C. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 Sep 1. [Epub ahead of print]

Objetivo: El transportador *ATP binding cassette Transporter A1* (ABCA1) es uno de los principales reguladores del eflujo de colesterol en macrófagos y protege a las células ante una excesiva acumulación de colesterol intracelular; sin embargo, el mecanismo implicado en la regulación postranscripcional del ABCA1 es poco conocido. Nosotros demostramos previamente que el microRNA-33 (miR-33) es un regulador del ABCA1. En este trabajo investigamos la potencial contribución de otros microRNA (miRNA) a la regulación postranscripcional de ABCA1 y del eflujo de colesterol en macrófagos.

Métodos y resultado: Realizamos un análisis bioinformático para identificar posibles lugares diana de unión de miRNA en el gen de ABCA1 y un análisis no sesgado de todo el genoma para identificar miRNA modulados por el exceso de colesterol en macrófagos peritoneales de ratón. Mediante retrotranscripción acoplada a reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real confirmamos que el miR-758 se inhibe en macrófagos cargados de colesterol. Bajo condiciones fisiológicas, una dieta rica en grasas produce en ratón una represión del miR-758 tanto en macrófagos peritoneales como, y en menor medida, en el hígado. *In vitro*, tanto en células humanas como murinas el miR-758 reprimió la expresión de ABCA1, y a la inversa, la inhibición de este miRNA utilizando un anti-miR-758 incrementó la expresión de ABCA1. En células de ratón, el miR-758 redujo el eflujo de colesterol celular a la apolipoproteína A1 (apoA1), mientras el anti-miR-758 lo incrementó. El miR-758 se dirige directamente a la región 3' no traducida del ABCA1 tal y como se determinó en ensayos de luciferasa de la región 3' no traducida. Destaca la elevada expresión de miR758 en el cerebro, en donde también tiene como diana otros genes implicados en funciones neurológicas, entre los que se incluyen SLC38A1, NTM, EPHA7 y MYT1L.

Conclusión: Hemos identificado a miR-758 como un nuevo miRNA que controla postranscripcionalmente el nivel de ABCA1 en diferentes células y regula el eflujo de colesterol celular a la apoA1, lo que abre la posibilidad de nuevas vías para aumentar la apoA1 y elevar los niveles de lipoproteínas de alta densidad.

Comentario

La alteración del eflujo de colesterol y en consecuencia del transporte reverso del colesterol se ha asociado con una reducción de los niveles plasmáticos de colesterol HDL y con un incremento del riesgo de enfermedades

cardiovasculares¹. De hecho, se considera que el transporte reverso del colesterol es uno de los principales mecanismos que subyacen al efecto ateroprotector de las HDL. Una de las principales vías implicadas en el eflujo de colesterol es la mediada por el transportador ABCA1. Cabe destacar que mutaciones que suponen una pérdida de función de este transportador dan lugar a la enfermedad de Tangier caracterizada por un grave déficit de HDL y una acumulación de colesterol en los macrofágos de tejidos periféricos². En este contexto, se ha especulado que terapias dirigidas a incrementar la función del transportador ABCA1 podrían ser beneficiosas en la lucha contra la aterosclerosis, y por tanto es fundamental profundizar en los mecanismos de regulación de este transportador. Los microRNA (miRNA), RNA no codificantes, se han revelado como reguladores críticos de la expresión génica y participan en el control de múltiples procesos biológicos, entre ellos la homeostasis del colesterol, si bien queda mucho por conocer en este ámbito³.

El trabajo de Ramírez et al. pretende profundizar en la regulación postranscripcional del transportador ABCA1. La presencia de una secuencia 3' extraordinariamente larga en su gen sugirió a los autores su posible regulación a través de miRNA. El análisis bioinformático evidenció un número considerable de potenciales sitios de unión a miRNA. De hecho, un análisis a gran escala mediante microarrays reveló que miR291b-5p, miR-672, miR-673-5p, miR-758 y miR-33 se encontraban inhibidos en macrófagos cargados de colesterol. Efectivamente, varios grupos, entre ellos los propios investigadores de este trabajo, ya habían descrito previamente la contribución de miR-33 a la regulación de la homeostasis del colesterol y cómo este miRNA participa en el control de la biogénesis de las HDL y del eflujo de colesterol a través de la regulación de ABCA1⁴⁻⁶. Los autores analizaron los efectos de miR291b-5p, miR-672, miR-673-5p y miR-758 sobre la expresión de ABCA1 en células THP-1 transfectadas con dichos miRNA y estimuladas con acLDL o T0901317 para inducir la expresión de ABCA1. Los resultados mostraron que miR-758 reprime la expresión de ABCA1 no solo en estas células sino también en macrófagos y en líneas celulares hepáticas (HepG2 y Hepa), y que miR-33 y miR-758 regulan este transportador de forma aditiva. Los autores demostraron el papel de miR-758 en el eflujo de colesterol mediado por ABCA1. De hecho, la expresión de ABCA1 y el eflujo de colesterol a la apoA1 se redujo en macrófagos J774 transfectados con el miR-758, mientras el antagonismo del miR-758 endógeno mostró efectos opuestos. Además, el silenciamiento de ABCA1 atenuó el efecto del miR-758 sobre el eflujo a la ApoA1, confirmando así la contribución de este transportador a los efectos de miR-758. Un aspecto destacable de este trabajo y que confiere un valor fisiopatológico a miR-758 son los estudios *in vivo*. Ramírez et al. confirmaron que la hipercolesterolemia inhibe la expresión de miR-758 a nivel hepático en ratones sometidos a dieta rica en grasas, así como en macrófagos peritoneales en el modelo de ratón deficiente en receptor LDL. Al igual que miR-33, miR-758 presenta un patrón de expresión ubicuo, pero en el caso de miR-758 destaca su alta expresión en el cerebro y particularmente en los astrocitos, un aspecto que deberá analizarse más detalladamente debido a la asociación de alteraciones en el metabolismo del colesterol con ciertas enfermedades neurodegenerativas. Finalmente, se demostró que miR-758

tiene como diana una región de unión en la secuencia 3' UTR del gen *ABCA1*, una región que se encuentra conservada entre especies, lo que refuerza los resultados obtenidos.

En resumen, los autores de este trabajo han identificado un segundo miRNA implicado en el control de la homeostasis del colesterol a través de la regulación del transportador *ABCA1*. Queda por establecer si el bloqueo de miR-758 podría constituir una estrategia terapéutica útil para incrementar los niveles de HDL y promover el eflujo de colesterol en pacientes con enfermedades cardiovasculares.

Bibliografía

1. Clee SM, Kastelein JJ, van Dam M, Marcil M, Roomp K, Zwarts KY, et al. Age and residual cholesterol efflux affect HDL cholesterol levels and coronary artery disease in *ABCA1* heterozygotes. *J Clin Invest.* 2000;106:1263-70.
2. Tarling EJ, Edwards PA. Dancing with the sterols: Critical roles for ABCG1, ABCA1, miRNAs, and nuclear and cell surface receptors in controlling cellular sterol homeostasis. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Jul 28 [Epub ahead of print].
3. Moore KJ, Rayner KJ, Suárez Y, Fernández-Hernando C. The role of microRNAs in cholesterol efflux and hepatic lipid metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2011;31:49-63.
4. Rayner KJ, Suárez Y, Dávalos A, Parathath S, Fitzgerald ML, Tamehiro N, et al. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science.* 2010;328:1570-3.
5. Najafi-Shoushtari SH, Kristo F, Li Y, Shioda T, Cohen DE, Gerszten RE, et al. MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis. *Science.* 2010;328:1566-9.
6. Horie T, Ono K, Horiguchi M, Nishi H, Nakamura T, Nagao K, et al. MicroRNA-33 encoded by an intron of sterol regulatory element-binding protein 2 (*Srebp2*) regulates HDL in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:17321-6.

Cristina Rodríguez Sinovas
Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC-ICCC),
IIB-Sant Pau, Barcelona, España
Correo electrónico: crodriguezs@csic-iccc.org

doi:[10.1016/j.arteri.2011.10.003](https://doi.org/10.1016/j.arteri.2011.10.003)