

expression of pro-inflammatory cytokines by human astroglial cells. *J Neurochem*. 2003;84:1266–74.

7. Sahingur SE, Xia XJ, Alamgir S, Honma K, Sharma A, Schenkein HA. DNA from *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* induce cytokine production in human monocytic cell lines. *Mol Oral Microbiol*. 2010;25:123–35.

Xavier Palomer

Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM)

Correo electrónico: xpalomer@ub.edu

doi:10.1016/j.arteri.2012.01.001

CCL20 se encuentra incrementado en sujetos con hipercolesterolemia y aumenta en presencia de LDL en células vasculares de músculo liso

Calvayrac O, Rodríguez-Calvo R, Alonso J, Orbe J, Martín-Ventura JL, Guadall A, Gentile M, Juan-Babot O, Egido J, Belouqui O, Paramo JA, Rodríguez C, Martínez-González J. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2011;31:2733–41.

El objetivo de este estudio consistió en analizar la regulación del ligando de quimiocinas CC de tipo 20 (CCL20) por lipoproteínas de baja densidad (LDL) en células de musculatura lisa vascular humana (VSMC). En sujetos asintomáticos, los niveles circulantes de CCL20 eran superiores en los pacientes que presentaban hipercolesterolemia ($18,5 \pm 3,2$ versus $9,1 \pm 1,3$ pg/ml; $p < 0,01$). En células VSMC, LDL inducía la expresión de CCL20 de manera dependiente de la dosis y del tiempo. El incremento de los niveles de CCL20 secretados por células VSMC tratadas con LDL inducía de manera significativa la migración de linfocitos humanos, efecto que disminuía después de silenciar CCL20. Este incremento de CCL20 inducido por LDL dependía de la activación de vías de señalización de diversas cinasas y también de NF- κ B. Mediante mutagénesis dirigida, ensayos de cambio en la movilidad electroforética e inmunoprecipitación de cromatina hemos identificado un sitio en NF- κ B (-80/-71) en la región promotora de CCL20 que es crítico para la respuesta a LDL. El ácido lisofosfatídico mimetizaba el incremento de CCL20 inducido por LDL, y la oxidación mínima de LDL incrementaba la capacidad de esta para inducir CCL20 mediante mecanismos que implican los receptores del ácido lisofosfatídico. CCL20 se encontraba sobreexpresado en lesiones ateroscleróticas de pacientes con enfermedad coronaria arterial, co-localizando con VSMC. CCL20 también se detectó en medio condicionado de aorta de sujetos sanos, y sus niveles aumentaron en secretomas de especímenes procedentes de endarterectomía de carótida. En conclusión, este estudio identifica CCL20 en las lesiones ateroscleróticas y caracteriza esta quimiocina como un mediador altamente sensible a la respuesta inflamatoria inducida por LDL.

Comentario

La aterosclerosis es una enfermedad en cuya progresión subyace un proceso inflamatorio crónico, aunque en algunos casos la causa desencadenante —la disfunción endotelial—

presenta características propias de una inflamación aguda. En las zonas donde se produce esta disfunción endotelial aumenta la permeabilidad vascular, favoreciendo la infiltración de LDL hacia el espacio subendotelial de la pared vascular. Como consecuencia, en estas regiones se incrementa la expresión de moléculas de adhesión y quimiocinas atrayentes, que favorecen el reclutamiento de las células inflamatorias. Los monocitos que penetran la pared arterial son capaces de diferenciarse a macrófagos, un tipo celular que expresa receptores *scavenger* que les permiten captar las LDL oxidadas y enriquecerse de material lipídico. La acumulación de lípidos en estos macrófagos provocará la formación de las células espumosas, que son la base de la estria grasa típica de la lesión aterosclerótica. El factor de transcripción nuclear NF- κ B regula la expresión de muchos de los genes inflamatorios relacionados con este proceso aterogénico, incluyendo las moléculas de adhesión, las citocinas y las quimiocinas. La actividad de este factor de transcripción es inducida por múltiples estímulos, incluyendo las mismas citocinas proinflamatorias (por ejemplo, el factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α] y la interleucina [IL]-1) o las LDL oxidadas.

La implicación de las quimiocinas en el desarrollo de la aterosclerosis es cada vez más reconocida. Estas quimiocinas son proteínas de pequeño tamaño, solubles y que son secretadas por múltiples tipos celulares, cuya característica principal es la capacidad de inducir la quimiotaxis de distintas células diana, principalmente leucocitos circulantes. Muchos estudios describen un aumento de la expresión y secreción de quimiocinas en las lesiones ateroscleróticas, como por ejemplo es el caso de la IL-8¹, la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1)² y de diversas quimiocinas de tipo CXC (también conocidas como quimiocinas de tipo α) o CC (quimiocinas γ)³. De entre estas últimas destaca la quimiocina CCL20, también conocida como proteína inflamatoria de macrófagos (MIP)-3 α , que fue descubierta en 1997⁴ y que se expresa mayoritariamente en macrófagos, células dendríticas, linfocitos y granulocitos. La unión de CCL20 a su receptor único CCR6, presente en células dendríticas inmaduras y linfocitos B y T, promueve una respuesta migratoria de estas. Además, recientemente también se ha descrito que CCL20 se expresa en células de músculo liso de los vasos sanguíneos susceptibles a desarrollar aterosclerosis. CCL20 también se ha relacionado con la patogénesis de enfermedades como el asma o la enfermedad inflamatoria intestinal^{5,6}.

En este artículo de Calvayrac et al. se describe como los niveles plasmáticos de CCL20 son mayores en pacientes con hipercolesterolemia, aun siendo asintomática, que en pacientes sanos. Este incremento podría derivar de la sobreproducción de esta quimiocina en células de músculo liso vascular y células endoteliales vasculares, pues los estudios

in vitro realizados por este mismo grupo demuestran que la exposición a LDL de estas células induce la expresión y secreción de CCL20. Esto se corrobora posteriormente al analizar la secreción de CCL20 en secretomas de las capas íntima y media de vasos sanguíneos humanos, así como también en arterias coronarias de pacientes con enfermedad coronaria arterial. El hecho de que se detecten niveles circulantes de CCL20 elevados en pacientes con hipercolesterolemia preclínica, y que sus niveles sean sensibles a los niveles de LDL, sugiere que la determinación de los niveles plasmáticos de esta quimiocina podría ser útil en el futuro como biomarcador para la detección precoz de la arteriosclerosis.

Por otro lado, en este trabajo se describe como el incremento de la síntesis de CCL20 es el responsable de un aumento significativo de la migración *in vitro* de los linfocitos, pues al silenciar específicamente el gen de *CCL20* se inhibe esta migración. Más importante aún, el estudio también profundiza en los mecanismos moleculares implicados en dicha activación. Así, Calvayrac et al. demuestran mediante múltiples y complejas aproximaciones técnicas —como son los ensayos de mutagénesis dirigida, cambios en la movilidad electroforética e inmunoprecipitación de cromatina— que este incremento de expresión de *CCL20* inducido por las LDL depende de la unión y posterior activación transcripcional de NF- κ B a la región promotora de este gen. En consonancia con estudios anteriores, Calvayrac et al. también vinculan la modulación de CCL20 por parte de las LDL con la actividad de distintas cinasas, como la proteína cinasa C y las proteínas cinasas activadas por mitógenos p38 y ERK1/2^{5,7}. Finalmente, el tratamiento con distintos anticuerpos bloqueadores, ácido lisofosfatídico o antagonistas del receptor de este último sugiere que el incremento de CCL20 inducido por LDL no depende de los receptores de esta lipoproteína, sino del receptor del ácido lisofosfatídico, uno de los principales fosfolípidos bioactivos presentes en estas LDL. Esto concuerda con el hecho de que la oxidación de las LDL, un proceso que incrementa su contenido en ácido lisofosfatídico, aumente la capacidad de estas LDL para inducir la producción de CCL20.

En resumen, este estudio sugiere que el control de la actividad de NF- κ B, y específicamente de la expresión y secreción de CCL20, podría ser una diana terapéutica muy atractiva para el control del proceso aterogénico, pues inhibiría uno de los pasos iniciales clave en el desarrollo de la placa de ateroma. Uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la aterosclerosis es la dislipemia, principalmente la presencia conjunta de concentraciones elevadas de colesterol LDL y bajos niveles de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (HDL), y este artículo demuestra claramente que CCL20 es inducida por LDL. Entre los principales compuestos farmacológicos utilizados para corregir los niveles elevados de colesterol de LDL destacan las estatinas, y se ha descrito que una de estas estatinas, la simvastatina, inhibe la producción de las quimiocinas MCP-1 y MIP-1 en células endoteliales vasculares y macrófagos humanos⁸. Esto es debido a que las estatinas presentan efectos pleiotrópicos antiinflamatorios derivados de la inhibición de la prenilación proteica. La prenilación proteica es un prerequisite básico para la actividad de proteínas como la subunidad γ de las proteínas G y pequeñas proteínas de unión a GTP, implicadas en procesos

de expresión génica, apoptosis, tráfico transmembrana y proliferación y migración celular. En este sentido, quizá sería interesante investigar si las estatinas pueden reducir la expresión de CCL20 en pacientes con hipercolesterolemia, así como en arterias coronarias de pacientes con enfermedad coronaria arterial. Asimismo, las estatinas también pueden estimular los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR), familia de receptores nucleares que también presenta propiedades antiinflamatorias⁹. Puesto que la activación de los PPAR presenta una reconocida actividad antiinflamatoria por inhibición de NF- κ B por medio de un mecanismo de transrepresión¹⁰, también sería interesante comprobar el efecto de los agonistas de PPAR α (fibratos) y PPAR γ (glitazonas o tiazolidindionas) sobre la expresión y la secreción de CCL20.

Bibliografía

1. Apostolopoulos J, Davenport P, Tipping PG. Interleukin-8 production by macrophages from atheromatous plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16:1007–12.
2. Liao F, Berliner JA, Mehrabian M, Navab M, Demer LL, Lusis AJ, et al. Minimally modified low density lipoprotein is biologically active in vivo in mice. *J Clin Invest*. 1991;87:2253–7.
3. Cheng C, Tempel D, van HR, de Boer HC, Segers D, Huisman M, et al. Shear stress-induced changes in atherosclerotic plaque composition are modulated by chemokines. *J Clin Invest*. 2007;117:616–26.
4. Rossi DL, Vicari AP, Franz-Bacon K, McClanahan TK, Zlotnik A. Identification through bioinformatics of two new macrophage proinflammatory human chemokines: MIP-3 α and MIP-3 β . *J Immunol*. 1997;158:1033–6.
5. Nozato K, Fujita J, Kawaguchi M, Ohara G, Morishima Y, Ishii Y, et al. IL-17F Induces CCL20 in bronchial epithelial cells. *J Allergy (Cairo)*. 2011;2011:587204.
6. Kaser A, Ludwiczek O, Holzmann S, Moschen AR, Weiss G, Enrich B, et al. Increased expression of CCL20 in human inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol*. 2004;24:74–85.
7. Lin TJ, Maher LH, Gomi K, McCurdy JD, Garduno R, Marshall JS. Selective early production of CCL20, or macrophage inflammatory protein 3 α , by human mast cells in response to *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun*. 2003;71:365–73.
8. Veillard NR, Brauersreuther V, Arnaud C, Burger F, Pelli G, Steffens S, et al. Simvastatin modulates chemokine and chemokine receptor expression by geranylgeranyl isoprenoid pathway in human endothelial cells and macrophages. *Atherosclerosis*. 2006;188:51–8.
9. Balakumar P, Mahadevan N. Interplay between statins and PPARs in improving cardiovascular outcomes: a double-edged sword? *Br J Pharmacol*. 2012;165:373–9.
10. Daynes RA, Jones DC. Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:748–59.

Xavier Palomer

Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM).

Pharmacology Unit, Department of Pharmacology and Therapeutic Chemistry, Faculty of Pharmacy - University of Barcelona, Barcelona, Spain

Correo electrónico: xpalomer@ub.edu