



COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICO

La ezetimiba inhibe la diferenciación de monocitos/macrófagos inducida por forbol-12-miristato-13-acetato mediante la alteración de la expresión de microARN: un nuevo mecanismo anti-aterosclerótico

Muñoz-Pacheco P, Ortega-Hernández A, Miana M, Cachofeiro V, Fernández-Cruz A, Gómez-Garre D. Ezetimibe inhibits PMA-induced monocyte/macrophage differentiation by altering microRNA expression: A novel anti-atherosclerotic mechanism. *Pharmacol Res.* 2012;66:536–43.

La ezetimiba, un inhibidor selectivo de la absorción intestinal de colesterol, reduce de manera efectiva el colesterol plasmático tanto si se usa en monoterapia como en combinación con una estatina. No obstante, su efecto sobre la progresión de la placa aterosclerótica es aún desconocido. Los microARN (miARN o miR) son moléculas cortas de ARN no codificante que están implicadas dinámicamente en la diferenciación de monocitos, proceso que es considerado esencial durante el desarrollo de la aterosclerosis. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de la ezetimiba en la diferenciación de monocitos/macrófagos, así como la implicación de los miARN en este proceso. La diferenciación de células THP-1 con PMA provocó su adhesión a la superficie del plástico, e indujo la expresión de marcadores de membrana de macrófagos (CD11a, CD11b e ICAM-1), así como de miR-155, miR-222, miR-424 y miR-503. En presencia de ezetimiba, la capacidad adherente de las células THP-1 se redujo de manera dependiente de la dosis ($p < 0,05$) y la expresión de CD11a, CD11b e ICAM-1 fue inhibida casi totalmente ($p < 0,05$). La expresión de miR-155, miR-222, miR-424 y miR-503 se redujo un 55, un 100, un 75 y un 100%, respectivamente ($p < 0,05$). Estudios mecanísticos posteriores demostraron que la ezetimiba suprimió la fosforilación inducida por PMA de la MAPK de tipo ERK, e inhibió la actividad de NF- κ B, que son 2 moléculas que se encuentran por encima en la vía de señalización del proceso de diferenciación. En conclusión, la ezetimiba inhibe la diferenciación inducida por PMA de las células THP-1 a macrófagos, en asociación con la inhibición de algunos miARN. Nuestro estudio

sugiere que la inhibición de los miARN podría constituir un nuevo mecanismo anti-aterosclerótico de la ezetimiba.

Comentario

La ezetimiba es un fármaco hipolipemiante que disminuye los niveles de colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL), altamente aterogénicas, en plasma. Su elevada eficacia, su tolerancia y su reducido número de efectos adversos lo convierten en un tratamiento ampliamente prescrito, especialmente en combinación con las estatinas, pues permiten alcanzar los objetivos de cLDL clínicamente recomendados. Sin embargo, poco se conoce sobre su efecto en la progresión de la aterosclerosis, una enfermedad inflamatoria crónica en cuyo origen se encuentra la infiltración de monocitos en circulación hacia la capa íntima subendotelial, y su posterior diferenciación a macrófagos. Este proceso de diferenciación conlleva el incremento de la expresión de receptores de tipo *toll-like*, que activan la respuesta inflamatoria, y de receptores *scavenger*, que contribuyen a la acumulación de colesterol en los macrófagos y conducen finalmente a la formación de células espumosas.

Este estudio se diseñó con el objetivo de investigar el efecto de la ezetimiba en la diferenciación de monocitos THP-1 a macrófagos inducida por forbol-12-miristato-13-acetato (PMA). El tratamiento con PMA provocó que los monocitos adquirieran características morfológicas y expresasen marcadores de superficie específicos de macrófagos. Por el contrario, la coincubación con ezetimiba previno esta diferenciación. Estudios posteriores demostraron que la ezetimiba suprimía la fosforilación inducida por PMA de la MAPK de tipo ERK1/2, y la actividad de NF- κ B, ambos implicados en la regulación del proceso de diferenciación. El grupo de Gómez-Garre et al. ya había demostrado previamente que la ezetimiba inhibía la migración inducida por la proteína quimioatractante de monocitos (MCP-1) *in vitro*¹. Ahora describen un nuevo mecanismo potencialmente anti-aterosclerótico de la ezetimiba, la inhibición de la diferenciación de monocitos a macrófagos, en un proceso asociado con la inhibición de la expresión de miARN o miR específicos (miR-155, miR-222, miR-424, miR-503 y miR-9). Los miARN son un tipo de ARN pequeño y no codificante que inhibe la expresión génica de manera específica, y que participa en múltiples procesos biológicos esenciales, como la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis, aunque también se ha asociado a procesos patológicos como las enfermedades cardiovasculares.

Hasta ahora existían pocos estudios que hubieran evaluado el efecto de los fármacos hipolipemiantes sobre la expresión de los miARN, destacando un estudio en el cual se implicaba miR-221/222 en los efectos pleiotrópicos de la atorvastatina². No obstante, el estudio de Gómez-Garre et al. solo evalúa miARN previamente relacionados con la diferenciación de monocitos por PMA, pero no investiga otros miARN que podrían llevar a cabo también funciones importantes. De hecho, existen numerosos miARN que intervienen durante el proceso aterogénico, ya sea modulando la función inflamatoria de las células endoteliales, la adhesión de los monocitos, la respuesta de los macrófagos a las LDL oxidadas, o promoviendo la proliferación de células del músculo liso vascular y células endoteliales^{3,4}. Las células periféricas requieren de la exportación de colesterol para mantener su homeostasis lipídica. La salida del colesterol hacia el medio extracelular puede producirse por difusión pasiva; por transferencia de colesterol hacia apolipoproteínas pobres en lípidos por medio del transportador *ATP binding cassette 1* (ABCA1), o por transporte de colesterol hacia lipoproteínas de alta densidad (HDL) maduras a través del transportador ABCG1 o del receptor *scavenger SR-BI*. Una de las rutas más importantes de exportación de colesterol desde el macrófago es la mediada por los transportadores ABCA1 y ABCG1. La modulación farmacológica de estos transportadores se considera una aproximación potencialmente beneficiosa para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. En este sentido, un estudio reciente ha demostrado la utilidad terapéutica de la inhibición selectiva de miR-33a/b en un modelo de mono verde africano⁵, donde se inducía la expresión hepática de ABCA1, proteína clave en el transporte reverso del colesterol desde los tejidos periféricos hacia las HDL, e incrementaba los niveles plasmáticos de HDL. Esto se explicaba porque miR-33a y miR-33b regulan la homeostasis del colesterol mediante la modulación de la expresión génica de ABCA1, ABCG1 y NPC1L1. Teniendo en cuenta que la ezetimiba actúa impidiendo la absorción intestinal del colesterol por inhibición de la proteína transportadora NPC1L1 en las microvellosidades intestinales, y que este fármaco, en combinación con la atorvastatina, presenta un efecto adicional interesante sobre el cHDL, sería interesante determinar si la

ezetimiba también regula miR-33a/b y, con ello, *NPC1L1* o *ABCA1/G1*. También podría resultar interesante comprobar, por ejemplo, su efecto sobre miR-146a, pues se ha visto que este miARN reduce significativamente los niveles de cLDL, incluyendo las LDL oxidadas, así como la secreción de interleucina (IL)-6, IL-8, quimiocinas (CCL2) y metaloproteasas, en macrófagos⁶.

Bibliografía

1. Gomez-Garre D, Munoz-Pacheco P, Gonzalez-Rubio ML, Aragoncillo P, Granados R, Fernandez-Cruz A. Ezetimibe reduces plaque inflammation in a rabbit model of atherosclerosis and inhibits monocyte migration in addition to its lipid-lowering effect. *Br J Pharmacol.* 2009;156:1218-27.
2. Minami Y, Satoh M, Maesawa C, Takahashi Y, Tabuchi T, Itoh T, et al. Effect of atorvastatin on microRNA 221/222 expression in endothelial progenitor cells obtained from patients with coronary artery disease. *Eur J Clin Invest.* 2009;39:359-67.
3. Small EM, Frost RJ, Olson EN. MicroRNAs add a new dimension to cardiovascular disease. *Circulation.* 2010;121:1022-32.
4. Schroen B, Heymans S. Small but smart-microRNAs in the centre of inflammatory processes during cardiovascular diseases, the metabolic syndrome, and ageing. *Cardiovasc Res.* 2011;93:605-13.
5. Davalos A, Goedeke L, Smibert P, Ramirez CM, Warrier NP, Andreo U, et al. miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:9232-7.
6. Yang K, He YS, Wang XQ, Lu L, Chen QJ, Liu J, et al. MiR-146a inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced lipid accumulation and inflammatory response via targeting toll-like receptor 4. *FEBS Lett.* 2011;585:854-60.

Xavier Palomer

Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Departamento de Farmacología y Química Terapéutica, Facultad de Farmacia, Universitat de Barcelona, Barcelona, España

Correo electrónico: xpalom@ub.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2012.12.002>

Implicación de la prostaglandina (PG)E₂ y la vía de señalización de AMPc en la inducción de la expresión de la ciclooxygenasa 2 y la prostaglandina E₂ sintasa microsomal-1 en macrófagos activados con lipopolisacárido

Díaz-Muñoz MD, Osma-García IC, Fresno M, Iñiguez MA. Involvement of PGE₂ and the cAMP signalling pathway in the up-regulation of COX-2 and mPGES-1 expression in LPS-activated macrophages. *Biochem J.* 2012;443:451-61.

La prostaglandina (PG) E₂ juega un papel importante en la modulación de la respuesta inmunológica y el proceso inflamatorio. En este estudio describimos una retroalimentación positiva de la PGE₂ para la expresión de la ciclooxygenasa (COX)-2 y de la PGE sintasa microsomal-1 (mPGES-1) en la línea celular de macrófagos RAW 264.7. Nuestros resultados muestran que la PGE₂ inducía la expresión de COX-2 y mPGES-1, un efecto que pudo ser mimetizado por el dibutiril AMPc (dbcAMP) o forskolina. Además, la vía de señalización del AMPc cooperaba con el lipopolisacárido (LPS) en la inducción transcripcional de COX-2 y mPGES-1. El análisis de la implicación de los receptores de PGE (prostanoides-E [EP]) demostró que la incubación con agonistas de EP2 incrementó la expresión del ARNm de COX-2 y mPGES-1. Asimismo, la sobreexpresión del receptor EP2 aumentó la activación