

by suppressing T lymphocytes with nitric oxide and prostaglandin E₂. *Exp Neurol.* 2009;216:177–83.

Xavier Palomer

Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM). Unidad de Farmacología, Departamento de

Farmacología y Química Terapéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Barcelona, España
Correo electrónico: xpalomer@ub.edu

doi:10.1016/j.arteri.2011.05.002

La angiotensina II modula de manera diferencial la expresión de la ciclooxigenasa-2, la prostaglandina E₂ sintasa-1 microsomal y la prostaglandina I₂ sintasa en fibroblastos de la túnica adventicia expuestos a estímulos inflamatorios

Galán M, Miguel M, Beltrán AE, Rodríguez C, García-Redondo AB, Rodríguez-Calvo R, Alonso MJ, Martínez-González J, Salices M. Angiotensin II differentially modulates cyclooxygenase-2, microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 and prostaglandin I₂ synthase expression in adventitial fibroblasts exposed to inflammatory stimuli. *Journal of Hypertension.* 2011;29:529-36.

El principal objetivo de este estudio consistió en examinar si la angiotensina II (Ang II) modula enzimas clave de la vía de la ciclooxigenasa (COX)-2/prostanoides, incluyendo la prostaglandina E₂ sintasa-1 (mPGES-1) y la prostaglandina sintasa (PGIS) en fibroblastos de la túnica externa o adventicia de aorta de rata, en presencia o ausencia de un estímulo inflamatorio [interleucina (IL)-1β]. Se utilizaron fibroblastos estimulados con IL-1β (10 ng/ml, 24 h) y/o Ang II (0,1 mmol/l, 24 h). IL-1β incrementó COX-2 y mPGES-1 (proteína i ARNm) y la liberación de PGI₂ y PGE₂, todo ello sin alterar la expresión proteica de PGIS. La Ang II no modificó la expresión de COX-2 ni mPGES-1, ni tampoco los niveles de prostanoides, pero indujo la expresión de PGIS. Cabe destacar que la Ang II incrementó aún más la expresión de COX-2 y la liberación de PGI₂ inducidas por IL-1β, y redujo de manera concomitante la expresión de mPGES-1 inducida mediante IL-1β. El antagonista del receptor AT1 losartán previno los efectos de la Ang II sobre la expresión de COX-2 o mPGES-1 inducida con IL-1β. IL-1β activó las vías de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK) p38 y la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK)1/2, y la coincubación con Ang II resultó en una fosforilación mayor y más sostenida de ambas MAPK. La inhibición de la p38 MAPK (SB203580) o ERK1/2 (PD98059) redujo la expresión de COX-2 y mPGES-1 en células tratadas con IL-1β o la combinación de IL-1β y Ang II. La Ang II no modificó la expresión de COX-2, pero incrementó la estabilidad de su ARNm en células tratadas con IL-1β; por el contrario, incrementó los

niveles de ARNm de PGIS mediante un mecanismo transcripcional. Como conclusión, se puede decir que la Ang II modula de manera diferencial las enzimas clave implicadas en la biosíntesis de prostanoides por medio de la alteración del equilibrio entre PGI₂/PGE₂ en células vasculares expuestas a estímulos inflamatorios.

Comentario

La conversión de ácido araquidónico en prostaglandina H₂ (PGH₂) es el primer paso en la biosíntesis de prostanoides. Esta reacción es catalizada por la ciclooxigenasa (COX)-2, una enzima inducida en respuesta a estímulos inflamatorios, como los que se producen en procesos patológicos como la arteriosclerosis y la hipertensión. El significado fisiopatológico de la inducción de COX-2 depende en gran medida de la actividad que ejerce sobre distintas enzimas que transforman la PGH₂ en otros prostanoides. Así, la actividad coordinada de la COX y la PGE sintasa (PGES) transforma la PGH₂ en PGE₂, un potente mediador lipídico que juega un papel muy importante en la inflamación. Ambas enzimas existen en forma constitutiva (COX-1 y PGES citosólica o cPGES) e inducible (COX-2 y PGES microsomal-1 o mPGES-1). El acoplamiento funcional entre las formas inducibles COX-2 y mPGES-1 ha sido propuesto como responsable de la regulación de la biosíntesis vascular de PGE₂ en condiciones inflamatorias. Por ejemplo, en macrófagos murinos inducidos con lipopolisacárido (LPS) se produce un incremento en la producción de PGE₂ debido a un incremento en la expresión y en la actividad de mPGES-1 y COX-2¹. La PGH₂ es también intermediaria de la síntesis de la PGI₂ por acción de la PGI₂ sintasa (PGIS). La PGI₂, el principal prostanoides sintetizado en vasculatura de mamíferos, ejerce un amplio espectro de acciones vasoprotectoras. Por otra parte, la angiotensina II (Ang II) está implicada en la hipertensión por medio de sus destacadas acciones proinflamatorias sobre la pared vascular, incluyendo la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y citocinas. Tanto la Ang II como estas citocinas promueven la inducción de COX-2 y mPGES-1. Al mismo tiempo, la Ang II potencia de manera sinérgica la inducción de la expresión de COX-2 por parte de factores de crecimiento y citocinas proinflamatorias.

Las complicaciones de la aterosclerosis se relacionan con el carácter inestable de la placa de ateroma. Las placas más vulnerables contienen, a menudo, un núcleo lipídico grande, un número reducido de VSMC y una acumulación de células inflamatorias. La regulación de la respuesta que pro-

ducen estas células inflamatorias es un elemento esencial en enfermedades como la aterosclerosis, con un trasfondo inflamatorio crónico². Entre estas células, los fibroblastos de la túnica externa o adventicia parecen desempeñar un papel importante en el desarrollo de la aterosclerosis. En realidad, últimamente han aparecido diversos estudios que sugieren que la mayoría de los procesos básicos de la inflamación vascular empiezan precisamente en la adventicia³, la capa más externa de los vasos, constituida por tejido conectivo intercalado con fibroblastos y células musculares lisas. El objetivo principal de este estudio ha consistido en determinar si la Ang II modula COX-2, mPGES-1 y PGIS en fibroblastos de la adventicia, tanto en condiciones basales como en presencia de la interleucina (IL)-1 β . La activación de NF- κ B por parte de la IL-1 β provoca respuestas relacionadas con la arteriosclerosis⁴, pues los genes inducidos por este factor de transcripción están implicados en procesos como la inflamación (TNF- α , IL-6, IL-8, COX-2, 5-lipooxigenasa); supervivencia celular (Bcl-2, Bcl-xL); proliferación (ciclina D1, COX-2); invasión (MMP-9, ICAM-1, VCAM-1), o angiogénesis (VEGF, bFGF, HGF, PDGF)⁵. Los resultados muestran que la incubación de fibroblastos de la adventicia con Ang II amplificó la expresión de COX-2 y PGIS, así como la producción de PGI₂, inducidas por IL-1 β . Esta acción sinérgica de Ang II e IL-1 β depende de la activación del receptor de angiotensina AT1, pues fue abolida con losartán, siendo independiente de la producción de ROS, a diferencia de lo descrito anteriormente en cardiomiocitos y células musculares lisas vasculares. Resultados similares se han descrito en otros modelos (células epiteliales intestinales), aunque no en todos (fibroblastos pulmonares; células mesangiales). En este estudio también se describe que la Ang II disminuye la expresión de mPGES-1 inducida por IL-1 β , aunque no altera de manera significativa la producción de PGE₂. En consecuencia, la Ang II altera el equilibrio entre PGI₂ y PGE₂ en células vasculares expuestas a estímulos inflamatorios.

Las proteincinasas activadas por mitógenos (MAPKs) son un nexo de unión importante entre estímulos externos y el núcleo por medio de la fosforilación y la regulación de múltiples factores de transcripción, y son esenciales para la regulación del crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis. Existen tres subfamilias de MAPKs: ERK, JNK y p38 MAPK. Las dos últimas son conocidas como MAPKs de respuesta a estrés, pues pueden ser activadas por estrés patológico de tipo isquemia, estímulos proinflamatorios o agentes citotóxicos. Diversas publicaciones han demostrado que las MAPKs p38 y ERK1/2 están implicadas en la inducción de la expresión de COX-2 por parte de la Ang II en diferentes tipos celulares. Por ejemplo, un estudio realizado en glomérulos renales ha descrito que la activación de la vía Ang II incrementa la producción de IL-1 β y COX-2, probablemente por estimulación directa de la cascada de señalización ERK1/2-NF- κ B⁶. La regulación de COX-2 por parte de la Ang II implica diversos mecanismos, como por ejemplo la estabilización del ARNm o un aumento de la transcripción. Aquí se demuestra que la Ang II no altera la actividad transcripcional de COX-2 inducida por IL-1 β , pero sí incrementa la estabilidad de su ARNm. Esto se ha demostrado elegantemente mediante la utilización de actinomicina D (antibiótico empleado como inhibidor de la transcripción) y con ensayos de actividad luciferasa, después

de transfectar estas células con un plásmido que contiene el motivo AUUUA presente en la región 3' no codificante del ARNm de COX-2, y que es el responsable de la estabilización del ARNm por parte de las MAPKs. A diferencia de lo que sucede en células endoteliales, la JNK no tiene un papel relevante en el control de la expresión de COX-2 en fibroblastos de la adventicia estimulados con Ang II³.

Por otro lado, el estudio de Galán y colaboradores describe que la IL-1 β incrementó la actividad del promotor de mPGES-1, pero ésta no fue modificada al combinarla con Ang II. Esto se explica porque, a diferencia de COX-2, el gen de mPGES-1 no contiene los motivos ricos en AU en la región 3' no codificante. Los autores sugieren que en este modelo, tal y como ya se había descrito anteriormente, mPGES-1 sería regulado principalmente por el factor de transcripción Egr-1 (factor de respuesta a crecimiento temprano-1), a través de la activación de ERK1/2 y p38 MAPKs. Egr-1 pertenece a un grupo de genes de respuesta rápida inducidos por estímulos proinflamatorios (citocinas, LPS), factores de crecimiento e hipoxia. Este factor de transcripción está implicado en el crecimiento y en la diferenciación celular, así como en el desarrollo de enfermedades inflamatorias crónicas como la aterosclerosis, siendo mPGES-1 uno de sus genes diana más estudiados. No obstante, Egr-1 también puede contribuir a la inducción de la expresión de COX-2 por exposición a LPS en macrófagos, un proceso en el cual también está implicado NF- κ B¹. Debido a que la Ang II también puede inducir la expresión de Egr-1⁷, sería interesante examinar el papel de este factor de transcripción en fibroblastos de la adventicia en presencia de Ang II e IL-1 β .

En resumen, este estudio describe que la inhibición de las MAPK disminuye la expresión de mPGES-1 en células estimuladas con IL-1 β sola o en combinación con Ang II, así como la expresión de PGIS después del tratamiento combinado Ang II e IL-1 β . Esto sugiere que ambas vías de señalización están implicadas en la expresión de mPGES-1 y PGIS en estos fibroblastos. En conjunto, estos resultados sugieren que la contribución de los fibroblastos de la adventicia a la producción de prostanoides implicados en la función vascular podría ser particularmente relevante en enfermedades en las cuales la Ang II induce la producción de citocinas inflamatorias, como la hipertensión. La Ang II podría incrementar la respuesta de los fibroblastos perivasculares a la estimulación inflamatoria por medio de la activación sinérgica con citocinas inflamatorias de la expresión de COX-2. De esta manera, un incremento de la producción de PGI₂ y la reducción de la expresión de mPGES-1 podría preservar la función vascular en condiciones patológicas con un trasfondo inflamatorio.

Bibliografía

1. Díaz-Muñoz MD, Osma-García IC, Cacheiro-Llaguno C, Fresno M, Iniguez MA. Coordinated up-regulation of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase 1 transcription by nuclear factor kappa B and early growth response-1 in macrophages. *Cell Signal*. 2010;22:1427–36.
2. Rival Y, Puech L, Taillandier T, Beneteau N, Rouquette A, Lestienne F, et al. PPAR activators and COX inhibitors selectively block cytokine-induced COX-2 expression and activity in human aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 2009;606:121–9.
3. Maiellaro K, Taylor WR. The role of the adventitia in vascular inflammation. *Cardiovasc Res*. 2007;75:640–8.

4. Jové M. Identificació de nous factors implicats en el desenvolupament de la resistència a la insulina [tesis doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona; 2005.
5. Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clin Cancer Res.* 2009;15:425–30.
6. Huang J, Siragy HM. Glucose promotes the production of interleukine-1beta and cyclooxygenase-2 in mesangial cells via enhanced (Pro)renin receptor expression. *Endocrinology.* 2009;150:5755–65.
7. Lijnen P, Petrov V. Renin-angiotensin system, hypertrophy and gene expression in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1999;31:949–70.

Xavier Palomer

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

Correo electrónico: xpalomer@ub.edu

doi:10.1016/j.arteri.2011.05.003

Sirt1 actúa en asociación con PPAR α para proteger el corazón de la hipertrofia, las alteraciones metabólicas y la inflamación

Planavila A, Iglesias R, Giralt M, Villarroya F. Sirt1 acts in association with PPAR α to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Cardiovascular Research.* 2011;90:276-84.

El desarrollo de la hipertrofia cardíaca conlleva un complejo conjunto de procesos metabólicos e inflamatorios. Diversos estudios han demostrado un papel importante para Sirt1 en la función cardíaca, mientras que el receptor activado por proliferadores peroxisómicos α (PPAR α) es una regulador clave del metabolismo lipídico cardíaco que también lleva a cabo una función protectora durante la hipertrofia cardíaca. El objetivo del presente estudio consistió en explorar la relación entre Sirt1 y PPAR α en el control de la hipertrofia, el metabolismo y los procesos inflamatorios en el corazón. Para los estudios *in vitro* se utilizaron cardiomiocitos neonatales de rata (NCMs). Tanto la activación de Sirt1 con resveratrol como la sobreexpresión de Sirt1 inhibieron la hipertrofia y previnieron la disminución de los genes implicados en la oxidación de ácidos grasos inducida mediante fenilefrina en NCMs. Sirt1 también inhibió el incremento de los niveles de ARNm de la proteína quimiotáctica de monocitos, una quimiocina proinflamatoria inducida por fenilefrina en NCMs, y bloqueó la mayor actividad del factor nuclear- κ B (NF- κ B) asociada con la exposición a fenilefrina. La inhibición de PPAR α suprimió los efectos beneficiosos de Sirt1 sobre la hipertrofia, el metabolismo de los ácidos grasos y la inflamación. Estudios de co-inmunoprecipitación revelaron que la sobreexpresión de Sirt1 en NCMs incrementaba la unión de PPAR α a la subunidad p65 de NF- κ B, y provocaban la desacetilación de ésta. Asimismo, la sobreexpresión de Sirt1 inducía la desacetilación de PGC-1 α , conocido coactivador de PPAR α . De acuerdo con estas observaciones obtenidas *in vitro*, el resveratrol previno la hipertrofia cardíaca, así como las alteraciones metabólicas y la inflamación inducidas mediante isoprenalina en ratones control, pero no en ratones transgénicos con expresión reducida de PPAR α . En conjunto, estos resultados revelan una implicación

importante de la interacción Sirt1-PPAR α en el papel protector de Sirt1 frente a la hipertrofia cardíaca.

Comentario

La hipertrofia cardíaca y la subsiguiente progresión hacia la insuficiencia cardíaca es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en países industrializados. Esta hipertrofia, que se caracteriza por un incremento del tamaño de los cardiomiocitos, se asocia con un cambio en la fuente energética principal desde los ácidos grasos hacia la glucosa. Aunque existe cierto debate sobre si estos cambios metabólicos son la causa o una consecuencia de la hipertrofia cardíaca, diversos estudios sugieren un papel importante para la alteración del metabolismo cardíaco en el desarrollo de ésta. La sirtuina Sirt1 es una proteína nuclear con actividad desacetilasa NAD⁺-dependiente que lleva a cabo un papel importante en el control de la homeostasis metabólica, pues induce la expresión de genes implicados en la oxidación de ácidos grasos, como la carnitina palmitoil-transferasa (*CPT-1*), la acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (*MCAD*) o la piruvato deshidrogenasa cinasa (*PDK4*). Asimismo, Sirt1 modula la actividad de los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPARs) y PGC-1 α en músculo, y se ha demostrado que la activación de PPAR α es capaz de prevenir la reducción en la expresión de genes relacionados con la oxidación de ácidos grasos y revertir así el desarrollo de la hipertrofia cardíaca. No obstante, diversos estudios realizados en ratones transgénicos para Sirt1 han demostrado un papel ambiguo de esta sirtuina en relación con la hipertrofia cardíaca. Planavila y colaboradores demuestran que la activación de Sirt1, ya sea por medio de la sobreexpresión génica o del tratamiento con resveratrol, previene el desarrollo de la hipertrofia cardíaca inducida por fenilefrina en cardiomiocitos neonatales de rata (NCMs) *in vitro*, o mediante isoprenalina en ratón. En este trabajo se explica que la activación de Sirt1 previene la disminución de la expresión de *MCAD*, *CPT-1* y *PDK4*, cuya expresión se encuentra reducida durante la hipertrofia cardíaca¹, y además se demuestra de manera elegante que el mecanismo implicado conlleva la activación de PPAR α . De hecho, los autores muestran que en ratones con expresión reducida de PPAR α (PPAR α ^{-/-}) desaparecen los efectos protectores derivados de la activación de Sirt1 en corazón. Precisamente,