Documento descargado de http://www.elsevier.es el 18/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.

Clin Invest Arterioscl. 2011;23(3):140—145

CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS

www.elsevier.es/arterio

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS

# La hipoxia induce la PGI sintasa e incrementa la liberación de $PGI_2$ en células vasculares humanas expuestas a estímulos inflamatorios

Camacho M, Rodríguez C, Guadall A, Alcolea S, Orriols M, Escudero JM, Martínez-González J, Vila L. Hypoxia upregulates PGI-synthase and increases $PGI_2$ release in human vascular cells exposed to inflammatory stimuli. Journal of Lipid Research. 2011;52:720-31.

La hipoxia afecta la función vascular y el metabolismo, la supervivencia, el crecimiento y la motilidad celulares, procesos todos ellos parcialmente regulados por prostanoides. En este estudio hemos analizado el efecto de la hipoxia y la inflamación sobre enzimas clave implicadas en la biosíntesis de prostanoides en células vasculares humanas. Concretamente en células de músculo liso vascular humanas (VSMC), la hipoxia y la interleucina (IL)-1 incrementan la prostaglandina $(PG)I_2$ de manera sinérgica, pero no la liberación de $PGE_2$, incrementándose en consecuencia la relación $PGI_2/PGE_2$. De manera paralela, estos estímulos indujeron la expresión (ARNm y proteína) y actividad de la ciclooxigenasa-2 (COX-2). Cabe destacar también que la hipoxia aumentó la expresión y la actividad de la PGI sintasa (PGIS) en VSMC y en células endoteliales humanas. Por el contrario, la hipoxia no modificó de manera significativa la PGE sintasa microsomal (mPGES). El silenciamiento del factor inducible por hipoxia (HIF)-1$\alpha$ previno el aumento de PGIS inducido por hipoxia. La actividad transcripcional de PGIS se incrementó con la hipoxia: no obstante, el promotor mínimo de PGIS sensible a hipoxia (-131 pb) no contiene ningún supuesto elemento de respuesta a hipoxia (HRE), sugiriendo que HIF-1 no controla directamente la expresión de PGIS. Estudios de deleción específica y mutagénesis dirigida sugirieron que distintos factores de transcripción parecen participar de manera cooperativa en el control de dicha expresión. Los niveles plasmáticos del metabolito estable de $PGI_2$ y la expresión de PGIS en distintos tejidos también se encontraron incrementados en ratones expuestos a hipoxia. Estos datos sugieren que el incremento de PGIS forma parte de la respuesta adaptativa de las células vasculares al estrés por hipoxia, y podría jugar un papel importante para contrarrestar los efectos nocivos de los estímulos inflamatorios.

## Comentario

La hipoxia es una condición clave para el desarrollo de algunas enfermedades cardiovasculares, pues induce mecanismos adaptativos encaminados a incrementar la concentración local de oxígeno con el fin de asegurar la viabilidad celular, y dirige la remodelación tisular. Los factores inducibles por hipoxia (HIF)-1 y HIF-2 son los principales efectores responsables de la respuesta celular a hipoxia[1]. Estos factores de transcripción son heterodímeros formados por una subunidad constitutivamente expresada HIF-1$\beta$, más HIF-1$\alpha$ o HIF-2$\alpha$, que son activados rápidamente en condiciones de hipoxia[1]. Una vez activo, el HIF induce la transcripción de varios genes que tienen como función reducir la tasa de fosforilación oxidativa y, en consecuencia, también el consumo de oxígeno[1]. Por otro lado, la ruta biosintética de los prostanoides también parece jugar un papel importante en los efectos biológicos mediados por la hipoxia. Por ejemplo, la hipoxia estimula la ciclooxigenasa-2 (COX-2), una de las enzimas que cataliza la conversión del ácido araquidónico en prostaglandina $H_2$ ($PGH_2$) y que ha sido frecuentemente asociada con vías proinflamatorias y proaterogénicas. La $PGH_2$ se transforma en $PGI_2$ (prostaciclina), el principal prostanoide sintetizado en tejido vascular de mamíferos, por acción de la PGI sintasa (PGIS). Esta $PGI_2$ contrarresta los efectos protrombóticos del tromboxano $A_2$, y tiene un amplio espectro de efectos vasoprotectores. La $PGH_2$, por medio de la acción de la PGE sintasa (PGES) en tejido vascular, es también precursora de la $PGE_2$, una molécula proinflamatoria y vasoconstrictora. En consecuencia, la síntesis de $PGE_2$ resulta de la actividad coordinada de la COX y de la PGES. 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 balance entre $PGI_2$ y $PGE_2$ depende, al menos en parte, de la relación entre la actividad PGIS/PGES, y la inducción de COX-2 podría tener un efecto variable sobre la ruta biosintética de los distintos prostanoides en función de la expresión y la actividad de las enzimas dependientes de la COX-2.

Los primeros cambios que preceden la formación de la lesión aterosclerótica resultan de la disfunción endotelial,

0214-9168/$ – see front matter

Documento descargado de http://www.elsevier.es el 18/06/2013. Copia para uso personal, se prohíbe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.



que provoca un incremento de la permeabilidad lipídica, el reclutamiento de macrófagos, linfocitos T y plaquetas, y la formación de células espumosas. Después de la lesión de la íntima, diferentes tipos celulares liberan mediadores del tipo factores de crecimiento y citocinas, que inducen múltiples cambios, incluyendo el cambio de fenotipo de las células musculares lisas vasculares (VSMC). La respuesta inflamatoria estimula la migración y la proliferación de las VSMC desde la túnica media a la íntima, hecho que se acompaña de la acumulación de nueva matriz extracelular. Entre los factores que contribuyen a la migración y proliferación de VSMC encontramos la Ang II y la interleucina (IL)-1. La regulación de la migración y de la proliferación de VSMC es muy compleja, y es vital para el progreso y la patogénesis de la aterosclerosis y la ruptura posterior de la placa. Este estudio muestra que, en células VSMC de aorta, los niveles de $PGI_2$ son modulados de manera sinérgica por la hipoxia y la inflamación inducida por IL-1$\beta$. También se observa un incremento concomitante de COX-2. Más importante aún, la inducción de PGIS por parte de la hipoxia favorece la conversión de $PGH_2$ en $PGI_2$. Por el contrario, la hipoxia tiende a disminuir la expresión y la actividad de mPGES-1 en presencia de IL-1$\beta$, favoreciéndose el incremento de la relación $PGI_2/PGE_2$. Estos resultados concuerdan con estudios previos realizados en VSMC de arteria pulmonar, donde se ha descrito que la IL-1$\beta$, pero no el TNF-$\alpha$, incrementa la producción de $PGI_2$ de manera paralela a la expresión de COX-2[2]. Por otro lado, el estudio de Camacho y colaboradores utiliza una hipoxia severa (1% $O_2$) en combinación con el tratamiento con la IL-1$\beta$. Se ha descrito que la exposición de VSMC humanas a hipoxia moderada (5% oxígeno) o severa (1%) es capaz por sí sola de incrementar la expresión de IL-1$\beta$[3]. Esta hipoxia induce la proliferación de las VSMC por dos mecanismos distintos: el primero se produce de manera independiente de IL-1 (5% oxígeno), mientras que el segundo sí sería dependiente de IL-1 (1% de oxígeno)[3]. En consecuencia, y dado que la IL-1 es un potente factor de crecimiento autocrino para las VSMC y también un potente inductor de COX-2, quizás sería interesante examinar qué sucede también en estas células en situación de hipoxia moderada.

Camacho y colaboradores demuestran que el incremento de PGIS inducido por parte de la hipoxia depende de un mecanismo transcripcional mediado por HIF-1, aunque los experimentos de deleción indicaron que la región promotora del gen implicada no incluía ningún elemento de respuesta a HIF (HRE). Aunque sí se han localizado diversos motivos conservados de reconocimiento de Sp1, un factor de transcripción inducido por el propio HIF-1, el silenciamiento génico de Sp1 también descartó la implicación de éste. Esto sugiere que el control de la expresión de PGIS resulta de la acción coordinada de otros factores de transcripción y mecanismos epigenéticos, tal y como ya se ha descrito en la bibliografía para otros genes (COX-2 y PAI-1). Por otro lado, este mismo trabajo señala que la hipoxia induce la expresión de PGIS en tejidos altamente vascularizados de ratón (cerebro, pulmón y riñón), hecho que concuerda con el incremento plasmático de $PGI_2$ descrito en animales expuestos a hipoxia. No obstante, a diferencia de los estudios in vivo, la hipoxia por sí sola no es capaz de incrementar la liberación de prostaglandinas en cultivos celulares. Esto se justifica por el hecho de que la hipoxia sola no puede movilizar el ácido araquidónico desde las membranas de células vasculares en cultivo. Por el contrario, in vivo, la cooperación de la hipoxia con células inflamatorias sí podría facilitar la liberación de mediadores proinflamatorios que activarían las fosfolipasas, generándose ácido araquidónico libre disponible para la actividad de la COX. Esto explicaría por qué, en células en cultivo, el incremento de PGIS contribuye a aumentar aún más la liberación de $PGI_2$ en presencia de hipoxia e IL-1$\beta$.

La vía PGIS/$PGI_2$ lleva a cabo un papel protector en patologías con una base isquémica, pues se ha demostrado que la administración de $PGI_2$ es el tratamiento más efectivo para la hipertensión pulmonar. Igualmente, en modelos experimentales la transferencia génica de PGIS protege contra el infarto cerebral isquémico, y la administración intravenosa de PGIS previene el daño cerebral isquémico. La estabilización de HIF-1$\alpha$ por parte de $PGI_2$ en condiciones de hipoxia prolongada podría ayudar a la respuesta de supervivencia inducida por estrés hipóxico. A pesar de que la actividad COX en condiciones fisiológicas es el paso limitante en la síntesis de $PGI_2$, la inducción de PGIS podría ser relevante para su producción cuando la actividad PGIS se vuelve limitante, tal y como podría suceder en un entorno inflamatorio. Por ejemplo, PGIS puede inactivarse de manera óxido nítrico (NO)-dependiente en situaciones de inflamación sistémica, como sucede durante la arteriosclerosis. La producción de NO implica la actividad de las NO sintasas (NOS), de las cuales existen tres isoformas: la NOS inducible (iNOS), la NOS endotelial (eNOS) y la NOS neuronal (nNOS). La primera es inducida por citocinas proinflamatorias, como por ejemplo IL-1$\beta$, mientras que las otras dos se expresan constitutivamente en sus respectivos tipos celulares. Evidencias recientes sugieren que mPGES-1 interviene en el mantenimiento de la presión arterial normal en un proceso mediado por la estimulación de la síntesis de NO. En este sentido, cabe destacar que, además de su regulación por citocinas proinflamatorias, los sistemas COX-2/PGE2 y iNOS/NO también se regulan mutuamente, en función del tipo celular[4]. En resumen, debido a que la $PGI_2$ presenta un amplio espectro de propiedades proangiogénicas, vasculoprotectoras y citoprotectoras, su inducción podría contribuir a la respuesta adaptativa de las células vasculares al estrés por hipoxia, contrarrestando los efectos nocivos inducidos por estímulos inflamatorios concomitantes.

## Bibliografía


1. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. Nat Rev Cancer. 2011;11:85—95.
2. Itoh A, Nishihira J, Makita H, Miyamoto K, Yamaguchi E, Nishimura M. Effects of IL-1beta, TNF-alpha, and macrophage migration inhibitory factor on prostacyclin synthesis in rat pulmonary artery smooth muscle cells. Respirology. 2003;8:467—72.
3. Cooper AL, Beasley D. Hypoxia stimulates proliferation and interleukin-1alpha production in human vascular smooth muscle cells. Am J Physiol. 1999;277:H1326—37.
4. Wang L, Shi J, Van Ginkel FW, Lan L, Niemeyer G, Martin DR, et al. Neural stem/progenitor cells modulate immune responses

Documento descargado de http://www.elsevier.es el 18/06/2013. Copia para uso personal, se prohibe la transmisión de este documento por cualquier medio o formato.



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 $E_2$ sintasa-1 microsomal y la prostaglandina $I_2$ 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, Salaices M. Angiotensin II differentially modulates cyclooxygenase-2, microsomal prostaglandin $E_2$ synthase-1 and prostaglandin $I_2$ 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 $E_2$ sintasa-1 (mPGES-1) y la prostaciclina 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 $PGI_2$ y $PGE_2$, 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 $PGI_2$ 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 $PGI_2/PGE_2$ en células vasculares expuestas a estímulos inflamatorios.

### Comentario

La conversión de ácido araquidónico en prostaglandina $H_2$ ($PGH_2$) 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 $PGH_2$ en otros prostanoides. Así, la actividad coordinada de la COX y la PGE sintasa (PGES) transforma la $PGH_2$ en $PGE_2$, 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 $PGE_2$ en condiciones inflamatorias. Por ejemplo, en macrófagos murinos inducidos con lipopolisacárido (LPS) se produce un incremento en la producción de $PGE_2$ debido a un incremento en la expresión y en la actividad de mPGES-1 y COX-2[1]. La $PGH_2$ es también intermediaria de la síntesis de la $PGI_2$ por acción de la $PGI_2$ sintasa (PGIS). La $PGI_2$, el principal prostanoide 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-