



ORIGINAL

## Ezetimibe inhibe la adhesión y la migración de monocitos a través de la ruta de las proteincinasas activadas extracelularmente (p44/p42<sup>ERK1/2</sup>)

Paloma Muñoz-Pacheco, Adriana Ortega-Hernández, Arturo Fernández-Cruz y Dulcenombre Gómez-Garre\*

Laboratorio de Biología Vascular, Área de Prevención y Rehabilitación Cardíaca, Instituto Cardiovascular, Hospital Clínico San Carlos-Universidad Complutense, Madrid, España

Recibido el 30 de diciembre de 2010; aceptado el 10 de mayo de 2011

Disponible en Internet el 1 de julio de 2011

### PALABRAS CLAVE

Ezetimibe;  
Inflamación;  
MAP quinasas

### Resumen

**Introducción:** Recientemente nuestro grupo ha demostrado que ezetimibe, un inhibidor específico de la absorción intestinal, es capaz de inhibir la inflamación vascular en un modelo de arteriosclerosis en conejo. Nuestro objetivo ha sido investigar el efecto de ezetimibe sobre la adhesión y la migración de monocitos humanos THP-1, así como la participación de la vía de señalización de las proteincinasas activadas extracelularmente (p44/p42<sup>ERK1/2</sup>) sobre el efecto observado.

**Material y métodos:** La adhesión se valoró como la capacidad de las células THP-1 para unirse a placas de cultivo, y la migración se determinó con el empleo de cámaras de quimiotaxis. La expresión de moléculas de adhesión se cuantificó mediante citometría de flujo, y la activación de p44/p42<sup>ERK1/2</sup> se estudió mediante Western Blot.

**Resultados:** La adhesión y la migración de los monocitos THP-1 inducidas con PMA o MCP-1, respectivamente, se inhibió de forma dependiente de la dosis al preincubar las células con ezetimibe. Además, el tratamiento con ezetimibe inhibió la expresión de las integrinas CD11a y CD11b, así como la fosforilación de p44/p42<sup>ERK1/2</sup> (la forma activa) inducida por MCP-1. Más del 90% de las células (evaluadas mediante azul tripán) eran viables tras 1 ó 2 días de exposición a ezetimibe.

**Conclusiones:** Nuestros resultados indican que ezetimibe, además de su actividad hipolipemiante, puede inhibir el proceso de adhesión y migración de los monocitos. Parece que el bloqueo de la ruta de señalización de las MAPK p44/p42<sup>ERK1/2</sup> podría estar implicado en el efecto observado.

© 2010 Elsevier España, S.L. y SEA. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [mgomezg.hcsc@salud.madrid.org](mailto:mgomezg.hcsc@salud.madrid.org) (D. Gómez-Garre).

**KEYWORDS**

Ezetimibe;  
Inflammation;  
MAP kinase

### Ezetimibe suppresses adhesion and chemotaxis of human monocytes through the p44/p42<sup>ERK1/2</sup>-dependent pathway

**Abstract**

**Introduction:** Recently, our group has demonstrated that ezetimibe, a specific inhibitor of intestinal absorption, is able to inhibit vascular inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. In this study, we investigated the effect of ezetimibe on the adhesion and migration of human THP-1 monocytes *in vitro*. We also studied the involvement of the MAP kinase signalling pathway, p44/p42<sup>ERK1/2</sup>, as a potential mechanism responsible for the observed effect.

**Material and methods:** Adhesion of THP-1 monocytes was measured as the ability of cells to bind to plates. Migration was studied using two-compartment chambers. The expression of adhesion molecules was assessed by flow cytometry. Activation of p44/p42<sup>ERK1/2</sup> was measured by Western Blot.

**Results:** Preincubation of THP-1 monocytes with ezetimibe prevented PMA-induced adhesion and MCP-1-induced migration in a dose-dependent manner. Preincubation of THP-1 monocytes with ezetimibe also inhibited the expression of the integrins CD11a and CD11b, as well as phosphorylation of p-p44/p42<sup>ERK1/2</sup> (the active form) induced by MCP-1. More than 90% of cells (evaluated through trypan blue) were viable 1 or 2 days after exposure to ezetimibe.

**Conclusions:** Our results indicate that, in addition to its lipid lowering activity, ezetimibe is able to inhibit the process of adhesion and migration of monocytes *in vitro*. Blocking of the p44/p42<sup>ERK1/2</sup> MAPK signalling pathway seems to play a role in this anti-inflammatory effect.

© 2010 Elsevier España, S.L. and SEA. All rights reserved.

**Introducción**

Aunque la arteriosclerosis es sin duda un proceso multifactorial, universalmente se acepta el papel del colesterol en la conformación de la placa aterosclerosa, no solo por su presencia esencial en el núcleo lipídico de la misma sino por su relación con la incidencia de accidentes vasculares, principalmente a nivel coronario<sup>1</sup>.

Ezetimibe es el primero de una nueva clase de agentes hipolipemiantes que inhiben selectivamente la absorción del colesterol intestinal y biliar de la dieta, así como otros esteroles de origen vegetal relacionados<sup>2,3</sup>. En la actualidad se dispone de una amplia experiencia clínica que demuestra la eficacia hipolipemiante de ezetimibe tanto en monoterapia como en combinación con cualquier estatina<sup>4</sup>.

Sin embargo, a pesar de su capacidad hipolipemiante, no existen todavía estudios clínicos que valoren directamente el efecto de ezetimibe sobre los eventos cardiovasculares. Por ello, en los últimos años, varios trabajos han evaluado su efecto ateroprotector empleando distintos modelos experimentales. Se ha demostrado que la administración de ezetimibe a ratones deficientes en ApoE reduce el área de la lesión aterosclerótica tanto en aortas como en arterias carótidas<sup>5</sup>. Este efecto ateroprotector de ezetimibe ha sido recientemente corroborado en un estudio de Dietrich et al<sup>6</sup> que demuestra una reducción significativa en el grosor de la pared de la aorta de los animales tratados con ezetimibe medido por resonancia magnética. En comparación con ratones deficientes en ApoE, el tratamiento con ezetimibe de ratones deficientes en ApoE y en la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) produce un mayor efecto ateroprotector, sugiriendo así que la ruta de eNOS, aunque no imprescindible, es capaz de aumentar el efecto anti-aterosclerótico de ezetimibe<sup>7</sup>. En algunos estudios se ha sugerido que ezetimibe podría tener algún otro efecto

además de la reducción de lípidos. En este sentido, Nakagami et al<sup>8</sup> han demostrado que ezetimibe mejora la función endotelial en ratones deficientes en ApoE, y que este efecto se asocia con un aumento en la expresión génica de eNOS y una disminución en la de la interleucina 6 (IL-6)<sup>8</sup>. Recientemente, en un modelo de aterosclerosis acelerada en conejo, nuestro grupo ha demostrado que ezetimibe es capaz de reducir el contenido de monocitos/macrófagos de la placa de aterosclerosis a través de la inhibición de la expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos MCP-1 (del inglés *monocyte chemoattractant protein*)<sup>9</sup>. Además, en comparación con los conejos no tratados, los que recibieron ezetimibe presentaron una menor concentración plasmática de proteína C reactiva (PCR), un marcador inflamatorio que se ha asociado con un aumento del riesgo cardiovascular.

En los últimos años se ha puesto en evidencia que los monocitos/macrófagos juegan un papel fundamental tanto en la formación de la placa de arteriosclerosis como en sus complicaciones trombóticas<sup>10,11</sup>. Una de las primeras etapas en el desarrollo de la placa de aterosclerosis es la unión de los monocitos circulantes al endotelio vascular a través de moléculas de adhesión, con la posterior transmigración hacia la capa subintimal. Este proceso está favorecido por quimiocinas como MCP-1<sup>12</sup>.

En este trabajo hemos investigado la eficacia antiinflamatoria de ezetimibe *in vitro*. Para ello, hemos estudiado el efecto de ezetimibe sobre la adhesión y la migración de monocitos humanos y sobre la expresión de diferentes moléculas de adhesión. Puesto que existe amplia evidencia sobre la participación de las cinasas activadas por mitógenos (MAPK), principalmente p42/p44<sup>ERK1/2</sup> y p38, sobre la migración celular inducida por quimiocinas<sup>13</sup>, además hemos investigado la participación de la vía de señalización de las MAPK/p42/p44<sup>ERK1/2</sup> en el efecto de ezetimibe.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2839895>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2839895>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)