

# La LDL agregada induce la expresión y la activación de factor tisular en células vasculares mediante un mecanismo inhibible por pravastatina

Sandra Camino-López, Vicenta Llorente-Cortés y Lina Badimon

Cardiovascular Research Center, CSIC-ICCC. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

**Introducción.** La captación de lipoproteína de baja densidad (LDL) modificada por agregación (LDLag) induce la expresión y la activación del factor tisular (FT) en células musculares lisas de la pared vascular (CMLV). Nuestro objetivo fue investigar el mecanismo involucrado en la inducción de FT por LDLag y la regulación de dicho mecanismo por la pravastatina.

**Métodos.** Las CMLV se preincubaron durante 4 h con pravastatina (0,5 mM), sin y con mevalonato (0,1 mM), geranilgeranil pirofosfato (GGPP) (10  $\mu$ M) o farnesil pirofosfato (FPP) (10  $\mu$ M). Posteriormente, las CMLV se incubaron con LDL nativa (LDLn) o LDLag (100  $\mu$ g/ml) durante 18 h. La expresión de FT se analizó mediante PCR a tiempo real. La actividad procoagulante de FT (APC) se evaluó mediante el ensayo de generación de factor X activado (Xa). La translocación de Rho A se estudió mediante la detección de Rho A en el citoplasma y la membrana. El efecto de la inhibición de Rho A se analizó en CMLV incubadas

con la exoenzima C3 (inhibidor específico de Rho A) (25  $\mu$ g/ml, 24 h).

**Resultados.** Las LDLag indujeron la expresión y la activación de FT concomitantemente al aumento del valor de Rho A en la membrana (2 $\times$ ). La pravastatina (0,5 mM) inhibió la expresión de ARNm y la actividad de FT inducida por LDLag en el 52,33  $\pm$  5,17% y en el 28  $\pm$  2%, respectivamente. Este efecto se revirtió por GGPP pero no por FPP, lo que sugiere la implicación de una proteína geranilgeranilada. La exoenzima C3, un inhibidor específico de Rho A, inhibió la expresión de ARNm y la activación de FT inducida por LDLag en el 42  $\pm$  3,3% y en el 41  $\pm$  2,5%, respectivamente.

**Conclusión.** La LDLag aumenta el FT en CMLV mediante un incremento en los valores de Rho A en la membrana y la pravastatina previene este efecto impidiendo la translocación de Rho A. Nuestros resultados contribuyen a explicar el papel crucial de Rho A en la patogénesis de la aterotrombosis y el potencial de las estatinas para prevenir la aterotrombosis.

**Palabras clave:** Aterotrombosis. Células musculares lisas de la pared vascular. Factor tisular. LDL agregada.

Este trabajo ha sido posible gracias a fondos de un Proyecto de Investigación SEA-2001 (Beca Bristol Myers Squibb) y de fondos adicionales de SAF2003-03187, FIS PI051717 y Fundación de Investigación Cardiovascular (FIC) Catalana-Occidente.

S. Camino-López es una becaria predoctoral del ICCC.

Correspondencia: Prof. L. Badimon.  
Centro de Investigación Cardiovascular, CSIC-ICCC. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.  
c/Sant Antoni Maria Claret, 167. 08025 Barcelona. España.  
Correo electrónico: lbadimon@csic-iccc.santpau.es

Recibido el 11 de octubre de 2006 y aceptado el 26 de enero de 2007.

## AGGREGATED LOW-DENSITY LIPOPROTEIN INDUCES TISSUE FACTOR EXPRESSION AND ACTIVITY IN VASCULAR CELLS THROUGH A MECHANISM SUSCEPTIBLE TO PRAVASTATIN-MEDIATED INHIBITION

**Introduction.** Aggregated low-density lipoprotein (agLDL) strongly induces tissue factor (TF) expression and activation in human vascular

smooth muscle cells (VSMC). The aim of this study was to investigate the mechanism involved in agLDL-TF overexpression and agLDL-TF activation, as well as regulation of this mechanism by pravastatin.

**Methods.** VSMC were preincubated with pravastatin (0.5 mM) with or without mevalonate (0.1 mM), geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) (10  $\mu$ M) and farnesyl pyrophosphate (FPP) (10  $\mu$ M). The cells were then exposed to native LDL (nLDL) or agLDL (100  $\mu$ g/ml) for 18 h. TF expression was measured by real-time PCR. TF activity was analyzed by the factor Xa generation test. Rho A traslocation was determined by detection of Rho A antigen in cytoplasmic and membrane fractions. The effect of Rho A inhibition on TF expression and activity was analyzed by preincubation of VSMC with exoenzyme C3 (25  $\mu$ g/ml, 24 hours).

**Results.** AgLDL significantly increased TF expression and activity concomitantly with an increase in Rho A membrane levels (by 2-fold). Pravastatin (0.5 mM) inhibited agLDL-TF mRNA overexpression and agLDL-TF activation by  $52.33 \pm 5.17\%$  and  $28 \pm 2\%$ , respectively. These effects were reverted by GGPP but not by FPP, suggesting involvement of a geranylgeranyl protein. Exoenzyme C3 (a specific Rho A inhibitor) prevented agLDL-TF overexpression and activation by  $42 \pm 3.3\%$  and  $41 \pm 2.5\%$ , respectively.

**Conclusion.** AgLDL internalization increases TF expression and activation through Rho A activation while pravastatin prevents this effect by impairing Rho A traslocation. Our results help to explain the major role of Rho A activation in the pathogenesis of atherothrombosis and the potential of statins in atherothrombosis prevention.

**Key words:**

Atherothrombosis. Vascular smooth muscle cell. Tissue factor. Aggregated LDL.

El factor tisular (FT) es una glucoproteína de la membrana iniciadora de la coagulación sanguínea. El contenido en FT predice el grado de trombogenicidad de la placa aterosclerótica<sup>1-4</sup>. Cuando la placa aterosclerótica se rompe, el lípido es un sustrato altamente trombogénico. La mayoría de los lípidos que se acumulan en la íntima arterial se encuentran en forma de lipoproteína de baja densidad (LDL) modificada por oxidación (LDLox) o por agregación (LDLag), procesos facilitados por la

interacción de la LDL con las proteínas de la matriz extracelular que conforman la íntima arterial<sup>5,6</sup>. Tanto las LDL nativas como diferentes tipos de LDL modificadas incrementan la expresión de FT en diferentes tipos celulares. Sin embargo, solamente las LDLox y las LDLag tienen la capacidad de incrementar la actividad celular procoagulante<sup>7-9</sup>. La activación del FT por las LDLox se produce mediante peroxidación lipídica intracelular<sup>7,8</sup>. Nuestro grupo ha demostrado previamente que las LDLag se unen al receptor lipoproteico LRP1 (*Low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein*). Este receptor media la captación selectiva y la acumulación intracelular de colesterol esterificado (CE) de la LDLag<sup>10-14</sup>. La captación de LDLag induce la expresión y la activación de FT y, por tanto, la transformación protrombótica de las células musculares lisas de la pared vascular (CMLV)<sup>9,14</sup>. Sabemos que la captación de LDLag por las CMLV no induce apoptosis, determinante crucial de desarrollo de aterosclerosis<sup>15,16</sup>. Sin embargo, desconocemos el mecanismo involucrado en la inducción FT por las LDLag. Diversos estudios han demostrado que los inhibidores de la HMG-CoA reductasa o estatinas son capaces de disminuir la incidencia de episodios coronarios gracias a sus efectos antitrombóticos<sup>17-19</sup>. Estos efectos beneficiosos incluyen la estabilización o regresión de la placa aterosclerótica. Las estatinas también han demostrado disminuir la expresión de FT en la aorta y también en las placas ateroscleróticas ricas en macrófagos presentes en conejos hipercolesterolémicos<sup>20-22</sup>. Nuestro grupo ha demostrado anteriormente que las estatinas inhiben significativamente la formación del trombo tanto en la pared vascular erosionada como en la dañada en modelo porcino<sup>23</sup>. Estos estudios in vivo demuestran una reducción en la trombogenicidad y una disminución en la expresión de FT en la pared vascular, y estos efectos son independientes de la disminución del colesterol sérico causada por las estatinas (efectos pleiotrópicos)<sup>20-23</sup>. Los efectos pleiotrópicos de las estatinas son el resultado de la capacidad de estos inhibidores para bloquear la síntesis de los principales donadores de isoprenoides hidrofóbicos, como son el farnesil pirofosfato (FPP) y el geranylgeranyl pirofosfato (GGPP). Estos grupos son responsables de la modificación lipídica postraduccional (prenilación) de proteínas isopreniladas envueltas en señal intracelular, tales como las proteínas GTPasa pequeñas pertenecientes a las familias Rho y Ras<sup>24,25</sup>. El objetivo de este trabajo fue investigar el mecanismo involucrado en la inducción de FT por LDLag y la regulación de dicho mecanismo por la pravastatina.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2840208>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2840208>

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