

Carta científica

La expresión ILK asociada a la edad se relaciona con la calcificación de la válvula aórtica y niveles plasmáticos del miR 199-3p***Aging-related ILK levels are associated with calcified aortic valve and circulating miR 199-3p levels*****Sr. Editor:**

La calcificación de la válvula aórtica (CVA) es una de las principales enfermedades cardiovasculares de la vejez y su resultado es una insuficiencia valvular¹. La disfunción endotelial, la inflamación y la agresión oxidativa y mecánica conducen a la remodelación valvular y miocárdica, aunque todavía no se han identificado las vías mecanosensitivas que activan los cambios en la calcificación. La cinasa unida a integrina (ILK) es una proteína clave que regula el tono vascular y la contractilidad cardíaca y actúa como mecanotransductor de las fuerzas hemodinámicas en el miocardio².

Ya se había observado que la expresión de ILK en las células endoteliales tiene un papel fundamental en la regulación del tono vasomotor, ya que impide el desacoplamiento de la sintasa del óxido nítrico endotelial (eNOS). Se definió una alteración de esta asociación con una clara correlación entre la inhibición de la ILK y la aterosclerosis³. Como parte de la respuesta inflamatoria, la concentración citotóxica del óxido nítrico (NO) procedente de la sintasa del óxido nítrico inducible (iNOS) activa la endocitosis de la ILK seguida de la degradación lisosómica, lo que conduce a la progresión de la aterosclerosis⁴.

La disfunción endotelial y la aterosclerosis son dos complicaciones de la vejez en las que la ILK participa de manera importante mediante mecanismos que aún se desconocen. Para comprobar si la ILK puede regular la CVA, se utilizaron ratones jóvenes y viejos que expresaban ILK. La tinción de Von Kossa de las válvulas aórticas de ratones viejos permitió ver grandes depósitos de calcio respecto a los animales jóvenes, junto con la expresión de las proteínas osteogénicas osteopontina y Runx2 (figura 1A,B) y una gran concentración de proteína morfogénica ósea 2 (BMP-2) (figura 1B). En los corazones viejos, la fibrosis era extensa (figura 1C), pero no se observó disfunción sistólica o diastólica del ventrículo izquierdo, aunque el grosor telesistólico del tabique interventricular y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo fueran menores que los de ratones jóvenes (figura 1D-G).

En el corazón de los ratones viejos se halló nitración de proteínas, indicio de sobrecarga de nitratos, como resultado de una alta concentración de NO citotóxico procedente de la mayor expresión de iNOS y la formación de anión superóxido (figura 1H,I), y la ILK endotelial se hallaba considerablemente reducida en las

arterias coronarias respecto a los adultos jóvenes (figura 2A). En consecuencia, la estimulación con acetilcolina de las arterias coronarias de los ratones viejos promueve la formación de superóxido dependiente de eNOS, en lugar del NO derivado del endotelio, ya que la inhibición de eNOS con L-NG-nitroarginina-metil éster (L-NAME) fue suficiente para revertir de manera eficaz este efecto (figura 2B).

Como en las arterias coronarias, la concentración de ILK endotelial observada en las válvulas aórticas de los ratones viejos fue también inferior a la de los adultos jóvenes (figura 2C). La función de la ILK en la CVA se estudió en células endoteliales de válvulas humanas, en las que la expresión de ILK disminuyó por la transfección con un ARN de interferencia pequeño (SiRNA) específico (ILKSi). El silenciamiento de ILK inhibió la producción de NO por las células endoteliales de las válvulas humanas (CEVH) (figura 2D) y se relacionó con una mayor expresión de BMP-2 (figura 2E), al igual que en las válvulas aórticas de los ratones viejos (figura 2B).

Se analizó la expresión de varios microARN implicados en la CVA⁵. De los 11 microARN expresados de modo diferencial en los ratones viejos frente a los jóvenes, el miR 199-3p se relacionó con la expresión de Notch y eNOS, y ambos genes se relacionaron directamente con la CVA (Notch) y el tono vascular (eNOS). El silenciamiento de Notch-1 aumentó la concentración de Runx2 y activó la calcificación de la válvula. Sorprendentemente, se observó que había relación entre la disminución de la ILK y la concentración reducida de miR-199-3p en los ratones viejos (figura 2F), lo que indica un mecanismo independiente de Notch en lo que respecta a la calcificación por ILK, aunque la participación de la vía Notch en la CVA es discutible, ya que también activa las respuestas osteógenas en las células intersticiales de la válvula aórtica humana⁶.

En conclusión, se observó por primera vez una relación significativa entre la reducción de la ILK endotelial, el desacoplamiento de eNOS y la calcificación valvular en los ratones viejos, lo que indica que la ILK impide la calcificación de la válvula a través del miRNA199-3p. Para validar la contribución específica de la ILK y los ARNm indirectos como objetivos en la CVA, serán muy importantes otros estudios que incluyan modelos murinos con inactivación condicional de genes específicos del endotelio.

Todas las intervenciones con los animales fueron aprobadas por el Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Alcalá y la Comunidad Autónoma de Madrid (intervención experimental 231.2/20) y conforme a la Directiva de la UE sobre la protección de los animales utilizados con fines experimentales y otros fines científicos (promulgada bajo la ley española 1201/2005).

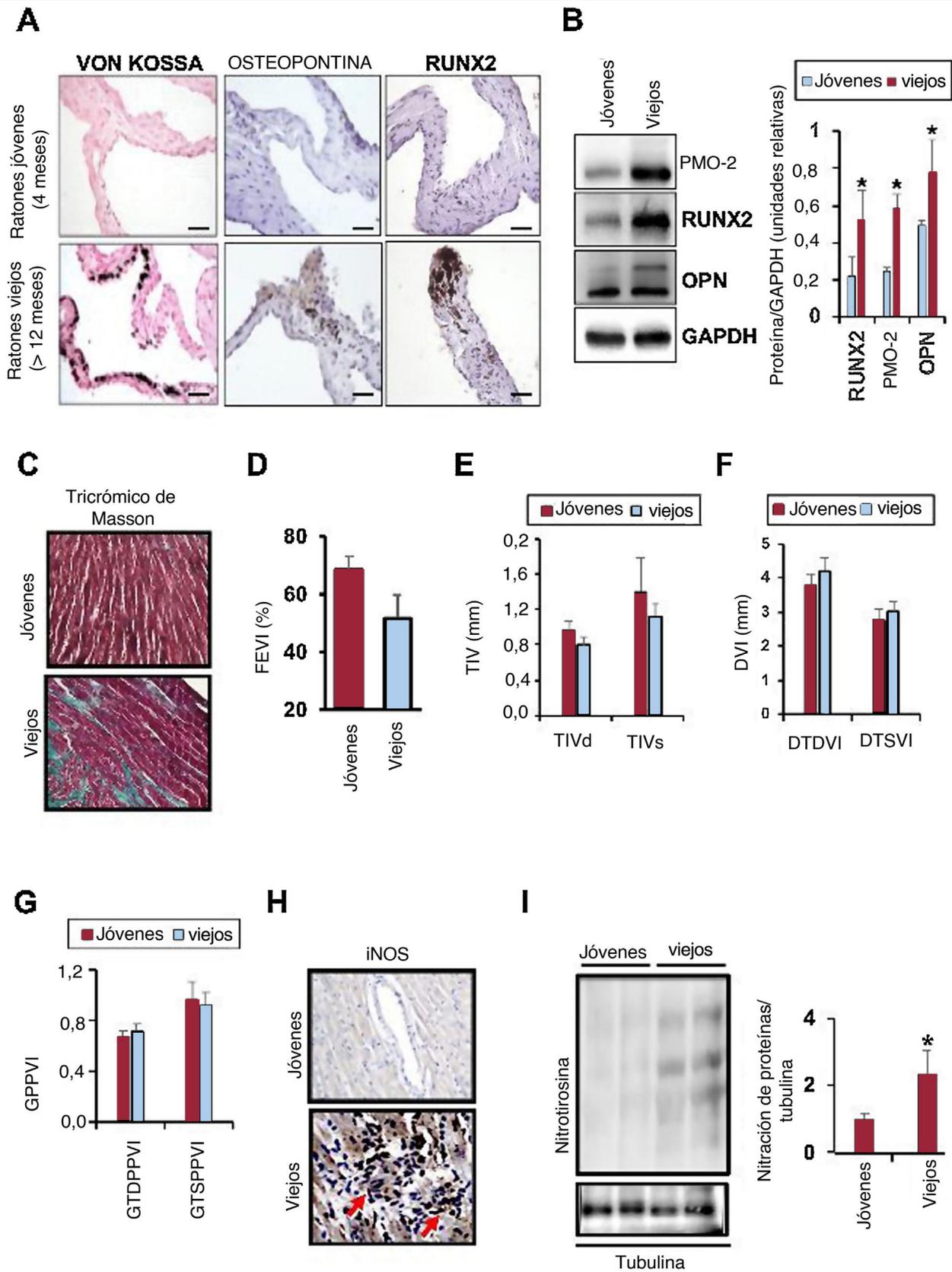


Figura 1. Calcificación de las válvulas aórticas relacionada con la edad. A: detección inmunohistoquímica y mediante tinción de Von Kossa de osteopontina y Runx2 en las válvulas aórticas de ratones viejos y jóvenes. B: detección mediante inmunotransferencia de PMO-2, Runx2 y osteopontina en las válvulas aórticas (n = 4 por grupo; media ± desviación estándar; el asterisco indica p < 0,05, jóvenes frente a viejos). C: tricrómico de Masson de las secciones de corazón procedentes de los mismos corazones. D: fracción de eyección del ventrículo izquierdo. E: grosor del tabique interventricular (TIV) en la diástole y la sístole finales. F: diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DTDVI) y diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo (DTSVI). G: grosor telediastólico de la pared posterior del ventrículo izquierdo (GTDPPVI) y grosor telesistólico de la pared posterior del ventrículo izquierdo (GTSPPI). H: expresión de iNOS. I: detección de nitración de proteínas con anticuerpo antinitrotirosina en los corazones (n = 4 por grupo; media ± DE; el asterisco indica p < 0,05, jóvenes frente a viejos).

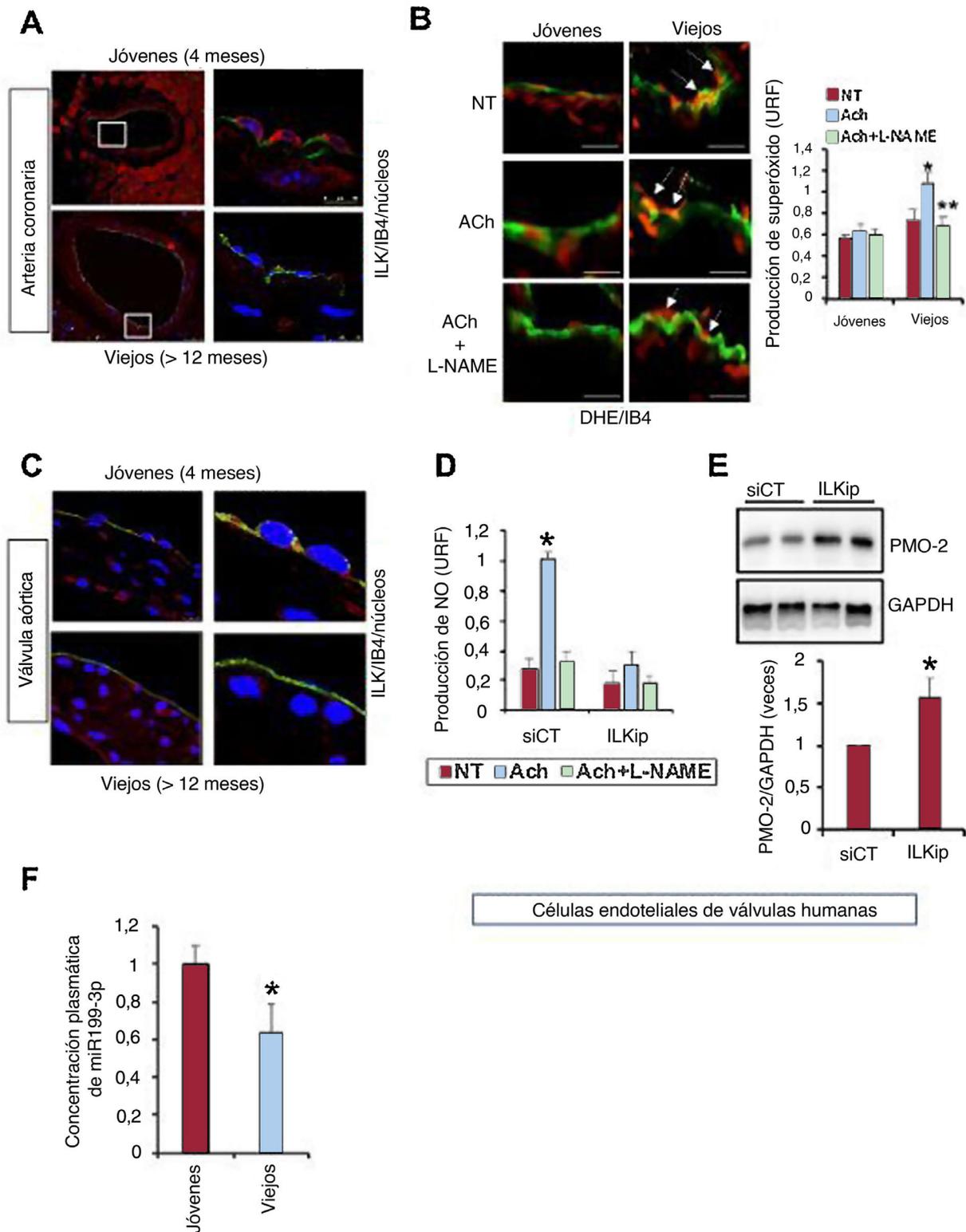


Figura 2. Expresión de ILK en el corazón de ratones jóvenes y viejos. A: izquierda, detección de ILK endotelial mediante microscopio confocal (Alexa 488, rojo) en las arterias coronarias; IB4 (isotiocianato de fluoresceína [FITC], verde, como marcador endotelial); derecha, secciones ampliadas (recuadros) (n = 4 por grupo). B: detección mediante microscopio confocal de anión superóxido por fluorescencia emitida por dihidroetidio (DHE) (rojo) en las arterias coronarias estimuladas con acetilcolina (ACh) 10 μ M durante 30 min o 500 μ M en combinación con L-NAME, el inhibidor de la sintasa del óxido nítrico (NOS) (n = 4 por grupo; media \pm DE; el asterisco indica p < 0,05, jóvenes con ACh frente a viejos; el doble asterisco indica p < 0,001, viejos con ACh frente a ACh más L-NG-nitroarginina-metil éster [L-NAME]). C: detección mediante microscopio confocal de ILK (rojo) en las válvulas de los mismos ratones (n = 4 por grupo). D: producción de NO en células endoteliales de válvulas humanas estimuladas como en B, en las que la expresión de ILK se redujo por el ARN de interferencia (ILKip); como control negativo, se utilizó un ARNip no ILK (siCT) (n = 3; media \pm DE; *p < 0,05 ACh frente a L-NAME). E: expresión de PMO-2 en las mismas células (n = 3; media \pm DE; el asterisco indica p < 0,05, siCT frente a ILKip). F: concentración plasmática de miR199-3p analizada por RT-qPCR (n = 4; media \pm DE; el asterisco indica p < 0,05, jóvenes frente a viejos). URF: unidades relativas de fluorescencia. Esta figura se muestra a todo color solo en la versión electrónica del artículo.

FINANCIACIÓN

P. Reventún, C. Zaragoza, M. Saura y J.L. Zamorano recibieron subvenciones del Proyecto de Investigación Básica en Cardiología de la Sociedad Española de Cardiología para sus investigaciones en el 2019 y M. Saura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Ayudas a proyectos de investigación) cofinanciadas por los Fondos Europeos de Desarrollo Regional de la Unión Europea: Una manera de hacer Europa (SBPLY/19/180501/000055). A. Cook recibió una beca de investigación predoctoral de la Universidad de Alcalá.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

S. Sánchez: experimentación, obtención de los datos. A. Cook: experimentación, obtención de los datos. P. Reventún: experimentación, obtención de los datos. C. Zaragoza: experimentación, revisión, edición. J.L. Zamorano: revisión, edición, obtención de financiación. M. Saura: conceptualización, metodología, experimentación, preparación del artículo original, redacción, revisión, edición, obtención de financiación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores afirman no tener ningún conflicto de intereses.

Sandra Sánchez-Esteban^a, Alberto Cook^a, Paula Reventún^b, Carlos Zaragoza^{c,e}, José Luis Zamorano^{d,e} y Marta Saura^{a,e,*}

^aDepartamento de Biología de Sistemas, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Alcalá de Henares, Madrid, España

^bSchool of Medicine, Cardiology Division, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, Estados Unidos

^cHospital Ramón y Cajal, Unidad de Investigación, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Universidad Francisco de Vitoria, Pozuelo de Alarcón, Madrid, España

^dServicio de Cardiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, España

^eCentro de Investigación en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), España

* Autor para correspondencia:

Correo electrónico: marta.saura@uah.es (M. Saura).

<https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.06.008>

0300-8932/ © 2021 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Towler DA. Molecular and cellular aspects of calcific aortic valve disease. *Circ Res.* 2013;113:198–208.
2. Hannigan GE, Coles JG, Dedhar S. Integrin-linked kinase at the heart of cardiac contractility, repair, and disease. *Circ Res.* 2007;100:1408–1414.
3. Herranz B, Marquez S, Guijarro B, et al. Integrin-linked kinase regulates vasomotor function by preventing endothelial nitric oxide synthase uncoupling: role in atherosclerosis. *Circ Res.* 2012;110:439–449.
4. Reventun P, Alique M, Cuadrado I, et al. iNOS-Derived Nitric Oxide Induces Integrin-Linked Kinase Endocytic Lysosome-Mediated Degradation in the Vascular Endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37:1272–1281.
5. Rathana S, Ankeny CJ, Arjunon S, et al. Identification of side- and shear-dependent microRNAs regulating porcine aortic valve pathogenesis. *Sci Rep.* 2016;6:25397.
6. Zeng Q, Song R, Ao L, et al. Notch1 promotes the pro-osteogenic response of human aortic valve interstitial cells via modulation of ERK1/2 and nuclear factor- κ B activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:1580–1590.

Consulta virtual de lípidos después de síndrome coronario agudo



Virtual lipid clinic after acute coronary syndrome

Sr. Editor:

Las terapias de reducción del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) constituyen la mejor herramienta disponible para la prevención secundaria de los pacientes que han sufrido un síndrome coronario agudo (SCA), por lo cual las guías recomiendan conseguir cifras de cLDL cada vez más exigentes, y se ha rebajado el objetivo lipídico previo de cLDL < 70 a < 55 mg/dl¹. A pesar de estas recomendaciones, estudios multicéntricos de prevención secundaria, como EUROASPIRE² y DA VINCI³, muestran que dichos objetivos se alcanzan en un reducido porcentaje de pacientes. Es más, según un reciente estudio realizado en nuestro país, alrededor de un 40% de los pacientes tras un infarto no cumplen ni siquiera el antiguo objetivo de cLDL < 70 mg/dl⁴. La principal causa de este incumplimiento es la infratilización de los tratamientos disponibles, tanto de la combinación estatina-ezetimiba como de los inhibidores de la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (iPCSK9), que se indica a menos del 1% de los pacientes^{4–6}.

En un intento de mejorar estos resultados se desarrolló una estrategia de control estricto y estrecho seguimiento de los pacientes ingresados en nuestro servicio por SCA, a la que se

denominó «Consulta virtual de lípidos post-SCA». Este estudio cumple con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación, con número de registro 85.21. Brevemente, su funcionamiento puede resumirse de la siguiente manera: se da el alta hospitalaria del SCA al paciente con estatinas de alta intensidad (salvo intolerancia) y con analítica solicitada para 1 mes tras el infarto. Al mes se contacta por teléfono con el paciente y, tras valoración telemática de la batería analítica, se escala el tratamiento hipolipemiente, siguiendo el algoritmo terapéutico del documento de consenso de la Sociedad Española de Cardiología⁵. Estas consultas se repiten cada mes hasta conseguir un cLDL < 55 mg/dl. En este momento se computa el tiempo transcurrido hasta la consecución del objetivo lipídico, que es la variable principal de este estudio, y el paciente abandona esta consulta virtual para continuar su seguimiento en consultas externas convencionales. Una minoría de pacientes salieron de la consulta virtual con cifras de cLDL > 55 mg/dl por considerarse que su estado biológico desaconsejaba estrategias más agresivas, como la incorporación de los iPCSK9 a su tratamiento.

Por contextualizar temporalmente esta «Consulta virtual de lípidos post-SCA», hay que resaltar que su comienzo en 2020 coincidió con la pandemia de COVID-19, que interrumpió el normal funcionamiento de los programas de rehabilitación cardíaca, al desaconsejarse las actividades grupales. Esta «Consulta virtual de