

Palabras clave

Pared vascular, calcio, angiotensina, proteínas contráctiles, fenotipo sintético.

Abreviaturas utilizadas

Ang II: angiotensina II
 Ca²⁺: iones de calcio
 CMLV: células musculares lisas vasculares
 DG: diacilglicerol
 IP₃: trifosfato de inositol
 MAPK: mitogen-activated protein kinase (kinasa de la proteína activada por mitógenos)
 MLC: cadena ligera de miosina
 MLCK: kinasa de cadena ligera de miosina
 NO: óxido nítrico
 NOX: NAD(P)H oxidasa (dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato – oxidasa)
 PKC: proteína kinasa C
 ROS: especies reactivas del oxígeno.

Síntesis Inicial

Capas de células musculares lisas conforman las paredes de numerosos órganos y tubos en el organismo, incluyendo los vasos sanguíneos. Las células musculares lisas vasculares carecen del patrón estriado en bandas que se observa en el músculo cardíaco y el esquelético. Reciben inervación neural del sistema nervioso autónomo.

El fenotipo contráctil del músculo liso está regulado por hormonas, capaces de actuar mediante mecanismos autocrinos o paracrinos, así como señales físicas y químicas locales.

Las CMLV pueden desarrollar contracciones tónicas y fásicas en respuesta a cambios en la carga o longitud. Independientemente del estímulo, estas células utilizan la interacción actina-miosina para desarrollar la fuerza, donde iones de calcio son responsables del inicio de la contracción.

Este capítulo repasa conceptos sobre los mecanismos de regulación de las respuestas integradas de contracción y relajación, así como de la regulación de la estructura vascular.

EL MECANISMO CONTRÁCTIL

En el vaso intacto, el proceso de contracción de las CMLV está regulado principalmente por estímulos mecánicos (estiramiento) que inducen la activación de las proteínas contráctiles actina y miosina. Cambios en el potencial de membrana, provocados por el disparo de potenciales de acción o por activación de canales iónicos dependientes de estiramiento en la membrana plasmática, también pueden desencadenar la contracción. Para que ésta se produzca, la MLCK debe fosforilar la cadena

ligera de 20-kDa de la miosina, permitiendo la interacción molecular de la miosina con la actina. La energía liberada a partir de ATP activa el ciclo de formación de puentes cruzados entre miosina y actina. De esta forma, la actividad contráctil de CMLV queda determinada principalmente por el estado de fosforilación de la cadena ligera de la miosina, un proceso altamente regulado. En algunas células este proceso se mantiene en niveles bajos, aunque variables, en ausencia de estímulos externos, siendo la responsable del tono basal del músculo liso.

La contracción del músculo liso depende del Ca^{2+}

La contracción de CMLV es iniciada por calcio y es mediada por el cambio en los filamentos gruesos, a diferencia de lo que ocurre en el músculo estriado (filamentos finos). La concentración intracelular de Ca^{2+} aumenta en respuesta a estímulos específicos, y cuando este ion se combina con la proteína ácida calmodulina, forma un complejo que activa a la MLCK para fosforilar la cadena ligera de la miosina. La concentración citosólica de Ca^{2+} se incrementa por liberación desde el retículo sarcoplásmico, así como por entrada desde el espacio extracelular a través de canales operados por receptores. Diversos agonistas (norepinefrina, angiotensina II, endotelina, etc.) capaces de unirse a receptores acoplados a una proteína G heterotrimérica, estimulan la actividad de la fosfolipasa C. Esta enzima cataliza, a partir del lípido de membrana fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato, la formación de dos potentes segundos mensajeros: IP3 y DG. La unión de IP3 a los receptores en el retículo sarcoplásmico provoca la liberación de Ca^{2+} en el citosol. DG, junto con Ca^{2+} , activa a PKC, que fosforila las proteínas diana específicas. Por otra parte, canales de Ca^{2+} tipo L operados por voltaje en la membrana también se abren en respuesta a la despolarización de la membrana provocada por estiramiento de la CMLV.

Regulación de la contracción del músculo liso

Diversos agonistas (neurotransmisores, hormonas, etc.) se unen a receptores específicos para activar la contracción de CMLV. La respuesta habitual es el aumento de la actividad fosfolipasa C a través del acoplamiento a través de una proteína G, siguiendo el mecanismo descrito antes. En la mayoría de los músculos lisos, PKC promueve la contracción mediante efectos tales como la fosforilación de canales de Ca^{2+} o de otras proteínas que regulan el ciclo de puentes cruzados. Ca^{2+} se une a calmodulina, conduciendo a la activación de MLCK, que fosforila la cadena ligera de la miosina, y en conjunción con actina forman el puente cruzado e inician el acortamiento de las CMLV. Sin embargo, la elevación en la concentración intracelular de Ca^{2+} es transitoria, aunque la respuesta contráctil se mantiene por un mecanismo Ca^{2+} -sensibilizante provocado por la Rho quinasa a través de la inhibición de la actividad de la fosfatasa de miosina. Este mecanismo se inicia al mismo tiempo que se activa la fosfolipasa C, e implica la activación de la proteína pequeña RhoA de unión a GTP. La activación de RhoA por el receptor acoplado a proteína G implica un factor de intercambio de nucleótidos guanina (RhoGEF) y la migración de RhoA en la membrana plasmática. Tras la activación, RhoA aumenta la actividad Rho quinasa, que conduce a la inhibición de la fosfatasa de miosina. Esto promueve el estado contráctil, ya que la cadena ligera de la miosina no puede ser desfosforilada.

Mecanismo de sensibilización y contracción del músculo liso

Además de la activación dependiente de Ca^{2+} de la MLCK, el estado de fosforilación de la miosina de cadena ligera está

mejor regulada por MLC fosfatasa,^{1,2,3} que elimina el fosfato de alta energía desde la cadena ligera de la miosina para promover la relajación del músculo liso. Existen tres subunidades de MLC fosfatasa: una subunidad catalítica, otra variable y una subunidad para unión a la miosina. Esta última, cuando está fosforilada, inhibe la actividad enzimática de la MLC fosfatasa, permitiendo que la cadena ligera de la miosina permanezca fosforilada, promoviendo así la contracción. La pequeña proteína G RhoA y su producto Rho quinasa desempeñan un papel importante en la regulación de la actividad de la MLC fosfatasa. Rho quinasa fosforila la subunidad de unión a la miosina de la MLC fosfatasa, inhibe su actividad y por lo tanto promueve el estado fosforilado de la cadena ligera de la miosina. La inhibición de Rho quinasa induce la relajación de segmentos aislados de músculo liso, lo que resulta en una disminución de la presión arterial.⁶

Una cuestión importante es la relación entre la ocupación del receptor y la activación de la cascada de señalización RhoA/Rho quinasa sensible a Ca^{2+} . El aumento de expresión y/o actividad de las proteínas RhoGEF podría aumentar la activación contráctil del músculo liso y por lo tanto, desempeñar un papel en enfermedades en las que una respuesta aumentada contribuye a la fisiopatología (hipertensión, asma, etc.)

Relajación del músculo liso

La relajación del músculo liso se produce ya sea como resultado de la eliminación del estímulo contráctil o por la acción directa de una sustancia que estimula la inhibición del mecanismo contráctil (por ejemplo, el factor natriurético auricular). Independientemente, el proceso de relajación requiere una disminución de Ca^{2+} intracelular y el aumento de actividad de la MLC fosfatasa.^{4,5} Los mecanismos capaces de secuestrar o eliminar Ca^{2+} intracelular y/o de aumentar la actividad de la MLC fosfatasa pueden alterarse, lo que contribuye a la capacidad de respuesta anormal del músculo liso.

La disminución en la concentración intracelular de Ca^{2+} provoca la relajación de CMLV. Varios mecanismos están implicados en la eliminación de Ca^{2+} citosólico e involucran al retículo sarcoplásmico y a la membrana plasmática. La captación de Ca^{2+} en el retículo sarcoplásmico depende de la hidrólisis de ATP. La Ca,Mg-ATPasa, cuando está fosforilada, se une a dos iones de Ca^{2+} , que luego se trasladan a la cara luminal del retículo sarcoplásmico y son liberados. El magnesio es necesario para la actividad de la enzima, dado que se une al sitio catalítico de la ATPasa de mediar la reacción.

La membrana plasmática también contiene Ca,Mg-ATPasas, proporcionando un mecanismo adicional para reducir la concentración activa de Ca^{2+} en la célula. Esta enzima se diferencia de la proteína sarcoplásmica reticular en que tiene un dominio de autoinhibición que puede estar vinculado con la calmodulina, causando la estimulación de la bomba de Ca^{2+} de la membrana plasmática.

Los intercambiadores $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ están ubicados en la membrana plasmática y contribuyen a la disminución de Ca^{2+} intracelular.

Canales de Ca^{2+} localizados en la membrana plasmática, operados por receptores o por voltaje, son importantes en el flujo de Ca^{2+} y la contracción de CMLV. Su inhibición puede provocar relajación. Antagonistas de estos canales se unen a diferentes receptores sobre la proteína del canal e inhiben la entrada de Ca^{2+} en el músculo liso.

Regulación anormal de contracción del músculo liso

Las alteraciones en los procesos de regulación que mantienen el Ca^{2+} intracelular y la fosforilación de MLC se han propuesto como posibles sitios que contribuyen a los eventos contráctiles anormales en CMLV.^{7,8,9} Además, las alteraciones en los eventos previos con impacto sobre el Ca^{2+} y la fosforilación de MLC también han sido implicadas.

El deterioro de la función puede producirse como resultado de un cambio en la acción directa de una sustancia que estimula la inhibición del mecanismo contráctil. Por ejemplo, la disminución de las respuestas de relajación puede deberse a una reducción en las vías de señalización de nucleótidos cíclicos que dependen junto con reducciones en la activación del receptor (β -adrenérgicos y AMP cíclico) o la biodisponibilidad de agonista (disfunción del endotelio, NO reducido y GMP cíclico). Un factor importante es la complejidad y la redundancia de estas vías de señalización celular que regulan al Ca^{2+} intracelular y la fosforilación de MLC en el músculo liso, que proporcionan un potencial terapéutico para la disfunción.

Regulación de la estructura vascular

Además de sus funciones contráctiles, las CMLV mantienen la estructura vascular. CMLV son células dinámicas y multifuncionales que contribuyen a la remodelación arterial a través de numerosos procesos, incluyendo el crecimiento celular (hiperplasia e hipertrofia), la apoptosis, la elongación de las células, la reorganización de las células, y/o alteración de la composición de la matriz extracelular.^{10,11}

Normalmente, las CMLV de las arterias en adultos constituyen un fenotipo completamente diferenciado, en estado de reposo "contráctil" y no son particularmente sensibles a los factores de crecimiento o moléculas reguladoras del crecimiento que inducen la proliferación y la migración celular. En respuesta a la lesión intimal por diferentes estímulos, incluyendo incremento de la presión arterial, las células pierden su capacidad contráctil, aumentan la secreción proteica y son más sensibles a los factores de crecimiento autocrinos y paracrinos. Estas células cambian entonces a un fenotipo activo "sintético". Los factores de crecimiento estimulan aún más la hipertrofia y la hiperplasia de CMLV, que conduce al aumento de la resistencia vascular continuamente. Por otra parte, la migración de CMLV es un mecanismo importante, relacionado con otros procesos patológicos, tales como hiperplasia de la íntima y la aterosclerosis.¹¹ Otro proceso encontrado en CMLV es la apoptosis, definida como la muerte celular genéticamente programada.

La apoptosis está implicada en la regulación fina del crecimiento de la media. El papel exacto de la apoptosis en el mantenimiento de la estructura arterial sigue siendo poco claro y no se sabe si la apoptosis es un proceso de crecimiento asociado compensatorio y adaptativo o un evento primario.

CMLV son capaces de producir factores de crecimiento y expresar angiotensinógeno, varias enzimas como la enzima convertidora de la angiotensina, moléculas de adhesión y citoquinas. Entre estos diversos factores humorales y de crecimiento, la Ang II parece ser uno de los más importantes. Ang II, el efector final del sistema renina-angiotensina, se genera dentro de la pared del vaso y regula el tono vascular, el crecimiento, la inducción de hiperplasia e hipertrofia celular, la interacción con otros factores de crecimiento, o influye en la generación de otras sustancias, tales como ROS o NO.¹²

ROS, incluyendo superóxido, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el peroxinitrito (ONOO^-), son moléculas de señalización, que regulan la función de CMLV. En la pared vascular, la principal fuente de superóxido es NOX asociada a la membrana. Aunque está bien establecido que la biodisponibilidad de ROS se incrementa en diversos modelos de hipertensión, todavía no se sabe si el estrés oxidativo vascular es un evento primario o una consecuencia del desarrollo de la hipertensión. Ang II parece ser uno de los factores más importantes que regulan NOX en la vasculatura. Ang II estimula la generación de ROS derivado de NOX y regula diferencialmente MAPK en CMLV, efectos que pueden contribuir a las acciones pleiotrópicas de Ang II en estas células.¹³

Se ha sugerido¹⁴ que la Ang II y el NO podrían ser integrados en un mecanismo homeostático que tendría por objeto regular la estructura y función vascular, pero también existen informes contradictorios sobre los efectos de Ang II en el sistema de generación de NO. Existen evidencias que permiten especular que el deterioro temprano en la producción de NO precede al desarrollo de la hipertensión y puede desempeñar un papel fisiopatológico en el remodelado de la pared vascular, independientemente de la elevación de la presión sanguínea.

Bibliografía sugerida

1. Fukata Y, Amano M, Kaibuchi. Rho-Rho-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non muscle cells. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 32-39.
2. Mitchell BM, Chitale KC, Webb RC. Vascular smooth muscle contraction and relaxation. In: *Hypertension Primer: The Essentials of High Blood Pressure*, edited by Izzo JL and Black HR. Dallas, TX: Am. Heart Assoc., 2003, p. 97-99.
3. Morgan KG. The role of calcium in the control of vascular tone as assessed by the Ca indicator Aequorin. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 4: 1355-1362.
4. Ridley AJ. Rho: theme and variations. A review. *Curr Biol* 1996; 6: 1256-1264.
5. Somlyo AP, Wu X, Lalker LA, Somlyo AV. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1999; 134: 201-234.
6. Chitale K, Weber D, Webb RC. RhoA/Rho-kinase, vascular changes and hypertension. *Curr Hypertension Rep* 2001; 3: 139-144.
7. Jin L, Linder AE, Mills TM, Webb RC. Inhibition of the tonic contraction in the treatment of erectile dysfunction. *Expert Opin Ther Targets* 2003; 7: 265-276.

8. Mills TM, Lewis RW, Wingard CJ, Chitale K, Webb RC. Inhibition of tonic contraction-a novel way to approach erectile dysfunction. *J Androl* 2002; 23: S5-S9.
9. Sah VP, Seasholtz TM, Sagi SA, Brown JH. The role of rho in G protein-coupled receptor signal transduction. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 459-489.
10. Schiffrin EL, Touyz RM. From bedside to bench to bedside: role of the renin-angiotensin-aldosterone system in remodeling of resistance arteries in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H435-H446.
11. Willis AI, Pierre-Paul D, Sumpio BE, Gahtan V. Vascular smooth muscle cell migration: current research and clinical implications. *Vasc Endovasc Surg* 2004; 38: 11-23.
12. Hu W, Fukuda N, Kanmatsuse K. Growth characteristics, angiotensin II generation, and microarray determined gene expression in vascular smooth muscle cells from young spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2002; 20: 1323-1333.
13. Touyz RM, Cruzado M, Tabet F, Yao G, Salomon S, Schiffrin EL. Redox-dependent MAP kinase signaling by Ang II in vascular smooth muscle cells: role of receptor tyrosine kinase transactivation. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81: 159-167.
14. Risler NR, Cruzado MC, Miatello RM. Vascular remodeling in experimental hypertension. *The Scientific World J* 2005; 5: 959-971.