

NOR-1: nuevo factor de transcripción regulador del estado redox de las células musculares lisas arteriales (CMLA) humanas

Judith Alonso¹, Laia Cañes², Cristina Rodríguez³, José Martínez²

1) CIBERCV. IIB-Sant Pau 2) Instituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona (IIBB-CSIC). IIB-Sant Pau. CIBERCV 3) Institut de Recerca del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau. CIBERCV

Objetivo: Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son esenciales para la señalización celular y la función vascular. Sin embargo, un desequilibrio en su generación y/o eliminación genera estrés oxidativo que exacerba el remodelado vascular en patologías como la aterosclerosis y el aneurisma de aorta abdominal. La familia de NADPH oxidasas (NOX) es clave en la formación de ROS. Analizamos nuevos mecanismos reguladores de la homeostasis redox en CMLA.

Metodología: Se realizaron estudios de ganancia (sobrexpresión lentiviral) y pérdida de función (silenciamiento) del receptor nuclear NOR-1 en CMLA humanas. Los niveles de ROS se determinaron utilizando marcadores (CM-H2CDA, DHE y Amplex Red) combinados con microscopía de fluorescencia y FACS. La expresión de genes implicados en la generación (familia NOX) y eliminación de ROS (familia SOD) se analizó mediante RT-PCR, y los niveles de proteína mediante *Western blot* e inmunocitoquímica. La actividad de promotores se evaluó en experimentos de transfección transitoria y EMSA. Mediante inmunohistoquímica se realizaron estudios de co-localización en lesiones ateroscleróticas de arterias coronarias.

Resultados: La sobre-expresión de NOR-1 incrementó los niveles de ROS, tanto de anión superóxido (O_2^-) como de H_2O_2 , y la expresión de NOX1. El silenciamiento de NOR-1 disminuyó los niveles basales de NOX1 y previno su inducción por estímulos inflamatorios. El análisis *in silico* del promotor de NOX1 identificó elementos de respuesta a NOR-1 cuya funcionalidad se confirmó mediante transfecciones transitorias y EMSA. El bloqueo de NOX1 previno la inducción de ROS dependiente de NOR-1. NOX1 y NOR-1 colocalizaron en CMLA de lesiones ateroscleróticas humanas. NOR-1 indujo (SOD1 y SOD3) e inhibió (SOD2 y NOX4) la expresión de otros reguladores del estado redox.

Conclusiones: Identificamos NOR-1 como intermediario clave en la modulación del estado redox de las CMLA humanas a través de la regulación de NOX1 y otros enzimas implicados en la producción y eliminación de ROS.