

La proteína espiga del SARS-CoV-2 afecta la función endotelial a través de la regulación a la baja de ace 2

Yuyang Lei

,

Jiao Zhang

,

Cara R. Schiavon

,

Ming He

,

Lili Chen

,

Hui Shen

,

Yichi Zhang

,

Qian Yin

,

Yoshitake Cho

,

Leonardo Andrade

,

Gerald S. Shadel

,

Marcos Hepokoski

,

Ting Lei

,

Hongliang Wang

,

Jin Zhang

,

Jason X.-J. Yuan

, ... [Ver todos los autores](#)

Publicado originalmente el 31 de marzo de 2021 <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318902> Circulation Research. 2021;128:1323–1326

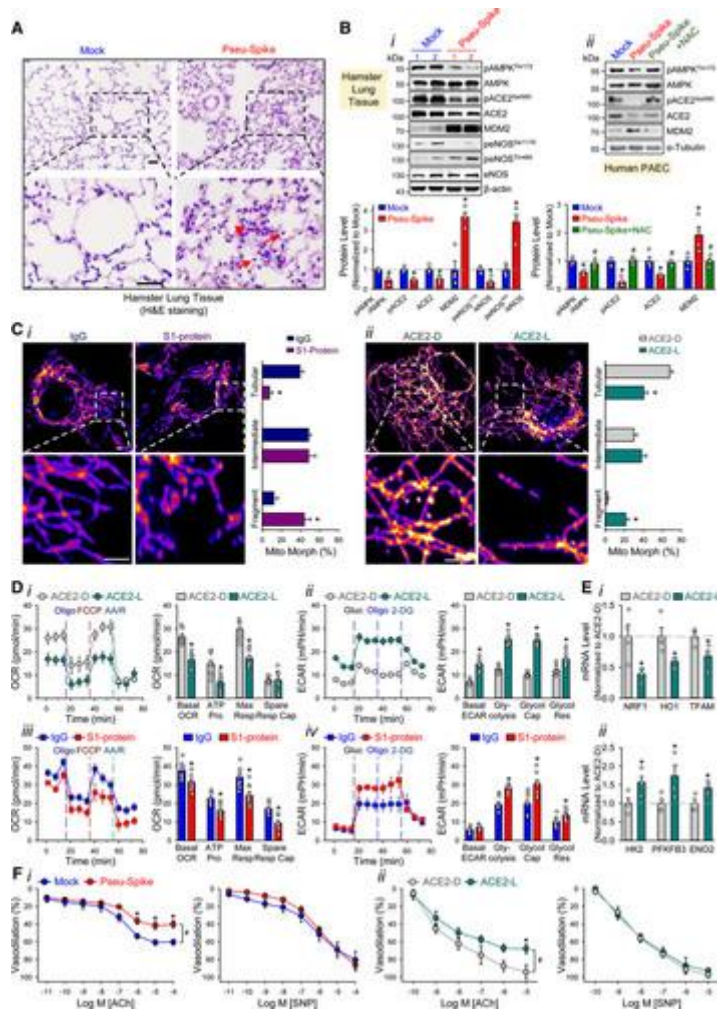
- [está relacionado con](#)

Conozca al primer autor, ver p [1239](#)

La infección por SARS-CoV-2 (coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave) se basa en la unión de la proteína S (glicoproteína Spike) a la ECA (enzima

convertidora de angiotensina) 2 en las células huésped. El endotelio vascular puede estar infectado por el SARS-CoV-2,¹ que desencadena la producción de especies reactivas mitocondriales de oxígeno y el cambio glucolítico.² Paradójicamente, ACE2 es protectora en el sistema cardiovascular, y la proteína SARS-CoV-1 S promueve la lesión pulmonar al disminuir el nivel de ACE2 en los pulmones infectados.³ En el estudio actual, mostramos que la proteína S sola puede dañar las células endoteliales vasculares (CE) al regular a la baja ACE2 y, en consecuencia, inhibir la función mitocondrial.

Administramos un pseudovirus que expresa la proteína S (Pseu-Spike) a los hámsters sirios por vía intratraqueal. El daño pulmonar fue evidente en los animales que recibieron Pseu-Spike, revelado por el engrosamiento de los septos alveolares y el aumento de la infiltración de células mononucleares ([Figura \[A\]](#)). AMPK (proteína quinasa activada por AMP) fosforila ACE2 Ser-680, MDM2 (murino de doble minuto 2) ubiquitina ACE2 Lys-788, y la diafonía entre AMPK y MDM2 determina el nivel de ACE2.⁴ En los pulmones dañados, los niveles de pAMPK (fosfo-AMPK), pACE2 (fosfo-ACE2) y ACE2 disminuyeron, pero los de MDM2 aumentaron ([Figura \[B\].i](#)). Además, el aumento y la disminución de la fosforilación complementaria de eNOS (NO sintasa endotelial) Thr-494 y Ser-1176 indicaron un deterioro de la actividad de eNOS. Estos cambios en la expresión de pACE2, ACE2, MDM2 y la actividad de AMPK en el endotelio fueron recapitulados por experimentos in vitro utilizando CE arteriales pulmonares infectadas con Pseu-Spike que fue rescatado por tratamiento con N-acetil-L-cisteína, un inhibidor reactivo de la especie de oxígeno ([Figura \[B\].ii](#)).



- [Descargar figura](#)
- [Descargar PowerPoint](#)

Figura. SARS-CoV-2 (Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo) La proteína Spike exagera la función de las células endoteliales (CE) a través de la regulación descendente de la ECA (enzima convertidora de angiotensina) 2 y el deterioro mitocondrial. **A**, Histopatología representativa de H&E de especímenes pulmonares de 8 a 12 semanas de hámsteres sirios machos de 5 días después de la administración de pseudovirus que sobreexpresa la proteína Spike (Pseu-Spike) o virus simulado en el grupo de control (n = 3 ratones por grupo, 1×10^8 PFU). Septos alveolares engrosados (punta de flecha roja) y células mononucleares (flecha roja). Barra de escala=20 μ m. **B**, Pseu-Spike (n = 4) o virus simulados (n = 4) – pulmones de hámster infectados fueron sometidos a análisis de Western blot para pAMPK (fosfo-AMPK) T172, AMPK, pACE2 (enzima convertidora de fosfoangiotensina) S680, ACE 2, MDM2, peNOS S1176, peNOS T494, eNOS (NO sintasa endotelial) y β -actina (**B,i**). Las CE arteriales pulmonares humanas (PAEC) se infectaron con Pseu-Spike o virus simulado durante 24 h con o sin pretratamiento con N-acetil-L-cisteína (NAC; 5 mmol/L) durante 2 h. Los extractos de proteínas fueron analizados por Western blot utilizando anticuerpos contra proteínas según lo indicado (n=4; **B,ii**). **C**, Imágenes confocales representativas de la morfología mitocondrial de las CE tratadas con proteína S1 recombinante humana o IgG (4 μ g/mL) durante 24 h (**C,i**) o infectadas con

adenovirus humano ACE2 S680D (ACE2-D) o ACE2 S680L (ACE2-L; 10 MOI) durante 48 h (C, ii). Las mitocondrias se visualizaron utilizando el anticuerpo TOM20 (n = 4, 50 células contadas para cada réplica). Barra de escala=2,5 μ m. Tubular: la mayoría de las mitocondrias en las CE tenían >10 μ m de longitud; Intermedio: las mitocondrias fueron \approx 10 μ m; Fragmento: la mayoría de las mitocondrias eran esféricas (sin longitud ni anchura claras). **D**, Medición de la tasa de consumo de oxígeno (OCR, **D**,i y iii) y la tasa de acidificación extracelular (ECAR, **D**,ii y iv) en CE infectados con ACE2-D vs ACE2-L (10 MOI) durante 48 h (n=3) o tratados con IgG vs proteína S1 (4 μ g/mL) durante 24 h (n=3). **E**, Análisis cuantitativo en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa de los niveles de ARNm indicados en ECs pulmonares de ratones KNOCK-IN ACE2-D (n = 4) y ACE2-L (n = 4). Se utilizaron ratones machos ACE2-D y ACE2-L de ocho semanas de edad con fondo C57BL/6. **F**, Curvas dosis-respuesta de acetilcolina (ACh, **izquierda**) y nitroprusiato de sodio (SNP, **derecha**) –relajación mediada por la tensión de fenilefrina (1 μ mol/L) rayas arteriales intrapulmonares precontraídas de Pseu-Spike-(ACh n=8, SNP n=5) o simulados (ACh n=6, SNP n=5) hámsteres sirios infectados por el virus (1×10^8 PFU; **F**,i) y ratones ACE2-D (n=6) o ACE2-L (n=5) (**F**,ii). Los experimentos con animales fueron aprobados por el comité ético de la Universidad Xi'an Jiaotong. 2-DG indica 2-Desoxi-D-glucosa; ACE2-D, un ACE2 fosfo-mimético con mayor estabilidad; ACE2-L, un ACE2 defosfo-mimético con estabilidad disminuida; AMPK, proteína quinasa activada por AMP; AA/R, antimicina A & Rotenona; ENO2, enolasa 2; FCCP, cianuro de carbonilo-p-(trifluorometoxi)fenilhidrazona; H&E, Hematoxilina y Eosina; HK2, hexoquinasa 2; HO1, hemo oxigenasa-1; MDM2, doble minuto murino 2; MOI: multiplicidad de la infección; NRF1: factor respiratorio nuclear 1; peNOS, fosfo-eNOS; PFKFB3, 6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa 3; Resp, respiración; y TFAM, factor de transcripción A, mitocondrial.

A continuación, estudiamos el impacto de la proteína S en la función mitocondrial. Las imágenes confocales de las CE tratadas con proteína S1 revelaron un aumento de la fragmentación mitocondrial, lo que indica una dinámica mitocondrial alterada (**Figura [C].i**). Para examinar si estos cambios mitocondriales se debieron, en parte, a la disminución de la cantidad de ACE2, sobreexpresamos ACE2 S680D (ACE2-D, un ACE2 fosfo-mimético con mayor estabilidad) o S680L (ACE2-L, un defosfo-mimético con estabilidad disminuida)⁴ en las CE. Como se muestra en **la Figura [C].ii**, las CE con ACE2-L tenían un mayor número de mitocondrias fragmentadas en comparación con aquellas con ACE2-D. Al realizar ensayos de tasa de consumo de oxígeno y tasa de acidificación extracelular, encontramos que las CE que sobreexpresaban ACE2-L habían reducido la respiración mitocondrial basal, la producción de ATP y la respiración máxima en comparación con las CE que sobreexpresaban ACE2-D (**Figura [D].i**). Además, la sobreexpresión de ACE2-L causó un aumento de la tasa de acidificación basal, glucólisis inducida por glucosa, capacidad glucolítica máxima y reserva glucolítica (**Figura [D].ii**). Además, las CE incubadas con proteína S1 tenían una función mitocondrial atenuada pero aumentaron la glucólisis, en comparación con las células de control tratadas con IgG (**Figura [D].iii** y iv). También comparamos las expresiones de genes relacionados con las mitocondrias y la glucólisis en CE pulmonares aisladas de ratones ACE2-D o ACE2-L knock-in. ⁴ Se muestra en la **Figura [E]**, los niveles de ARNm de *NRF1*, *HO1* y *TFAM* (genes relacionados con la biogénesis mitocondrial)

aumentaron, mientras que los de *HK2*, *PFKFB3* y *ENO2* (genes relacionados con la glucólisis) disminuyeron en las CE pulmonares en ratones ACE2-D, en comparación con las de los ratones ACE2-L.

La infección por SARS-CoV-2 induce inflamación de la CE, lo que lleva a la endotelitis.¹⁵ Debido a que la proteína S disminuyó el nivel de ACE2 y deterioró la biodisponibilidad de NO, examinamos si la entrada de proteína S es indispensable para el endotelio disfuncional. Como se muestra en la [Figura \[F\].i](#), la vasodilatación dependiente del endotelio inducida por la acetilcolina se vio afectada en las arterias pulmonares aisladas de hámsteres administrados por Pseu-Spike, mientras que la vasodilatación independiente del endotelio inducida por el nitroprusiato de sodio no se vio afectada. También comparamos la vasodilatación inducida por nitroprusiato de acetilcolina y sodio de los vasos pulmonares de ratones ACE2-D o ACE2-L. Como se anticipó, la vasodilatación inducida por acetilcolina se vio obstaculizada en las arterias pulmonares aisladas de ratones ACE2-L en comparación con los ratones ACE2-D ([Figura \[F\].ii](#)). Sin embargo, hubo poca diferencia en la vasodilatación inducida por el nitroprusiato de sodio entre los animales ACE2-D y ACE-L.

Aunque el uso de un pseudovirus no infeccioso es una limitación para este estudio, nuestros datos revelan que la proteína S sola puede dañar el endotelio, manifestado por una función mitocondrial deteriorada y la actividad de eNOS, pero una mayor glucólisis. Parece que la proteína S en las CE aumenta el estrés redox que puede conducir a la desactivación de AMPK, la regulación ascendente de MDM2 y, en última instancia, la desestabilización de ACE2.⁴ Aunque estos hallazgos deben confirmarse con el virus SARS-CoV-2 en el futuro estudio, parece paradójico que la reducción de ACE2 por la proteína S disminuya la infectividad del virus, protegiendo así el endotelio. Sin embargo, un sistema renina-angiotensina desregulado debido a la reducción de ACE2 puede exacerbar la disfunción endotelial, lo que lleva a la endotelitis. En conjunto, nuestros resultados sugieren que el daño ec ejercido por la proteína S anula la disminución de la infectividad del virus. Esta conclusión sugiere que el anticuerpo generado por la vacunación y/o el anticuerpo exógeno contra la proteína S no solo protege al huésped de la infectividad del SARS-CoV-2, sino que también inhibe la lesión endotelial impuesta por la proteína S.

Abreviaturas y acrónimos no estándar

AS	enzima convertidora de angiotensina
Ecs	células endoteliales
Enos	NO sintasa endotelial
pACE2	fosfo-ACE2

pAMPK

fosfo-AMPK

Proteína S

Glicoproteína espiga

Disponibilidad de datos

Los datos que respaldan los hallazgos de este estudio, incluidos los análisis estadísticos y los reactivos utilizados, están disponibles en el autor correspondiente previa solicitud.

Fuentes de financiación

Este trabajo fue apoyado en parte por subvenciones de la Fundación Nacional de Ciencias Naturales de China (NSFC) subvenciones 81870220 (S. Wang), 81800328 (J.Z.), 81941005 (Z.-Y. Yuan); Fondo de Ciencias Naturales de Shaanxi S2020-JC-JQ-0239 (S. Wang); El Programa Nacional Clave de Investigación y Desarrollo (Subvención No. 2018YFC1311500; Z.-Y. Yuan); el Premio de Investigación Clínica del Primer Hospital Afiliado de la Universidad Xi'an Jiaotong (Subvención No. XJTU1AF-CRF-2016-004; Z.-Y. Yuan); Apoyo financiero de la Universidad Xi'an Jiaotong.

Divulgaciones Ninguna.

Notas

*Y. Lei y J. Zhang contribuyeron por igual.

†U. Manor, S. Wang, Z.-Y. Yuan, y J.Y.-J. Shyy contribuyó igualmente como autores principales.

Para Fuentes de Financiamiento y Divulgaciones, ver página 1324.

Correspondencia a: John Y.-J. Shyy, PhD, División de Cardiología, Departamento de Medicina, Universidad de California, San Diego, 9500 Gilman Dr, La Jolla, CA 92093, correo electrónico jshyy@health.ucsd.edu

Zu-Yi Yuan, MD, PhD, Departamento de Cardiología, Primer Hospital Afiliado de la Universidad Xi'an Jiaotong, 277 Yanta W Rd, Xi'an 710061, China, Correo electrónico zuyiyuan@mail.xjtu.edu.cn

Referencias

- 1. Teuwen LA, Geldhof V, Pasut A, Carmeliet P. COVID-19: la vasculatura desatada. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20:389–391. doi: 10.1038/s41577-020-0343-0 [Crossref](#) [Medline](#) [Google Scholar](#)

-
- 2.Codo AC, Davanzo GG, Monteiro LB, de Souza GF, Muraro SP, Virgilio-da-Silva JV, Prodonoff JS, Carregari VC, de Biagi Junior CAO, Crunfli F, et al.. Los niveles elevados de glucosa favorecen la infección por SARS-CoV-2 y la respuesta de los monocitos a través de un eje hiF-1 α /glucólisis dependiente. **Celda Metab.** 2020; 32:437–446.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2020.07.007 [Crossref](#) [Medline](#) [Google Scholar](#)
 - 3.Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, Huan Y, Yang P, Zhang Y, Deng W, et al.. Un papel crucial de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) en la lesión pulmonar inducida por el coronavirus SARS. **Nat Med.** 2005; 11:875–879. doi: 10.1038/nm1267 [Crossref](#) [Medline](#) [Google Scholar](#)
 - 4.Shen H, Zhang J, Wang C, Jain PP, Xiong M, Shi X, Lei Y, Chen S, Yin Q, Thistlethwaite PA, et al.. La ubiquitinación mediada por MDM2 de la enzima convertidora de angiotensina 2 contribuye al desarrollo de hipertensión arterial pulmonar. **Circulación.** 2020; 142:1190–1204. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048191 [Link](#) [Google Scholar](#)
 - 5.Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H. Infección de células endoteliales y endotelitis en COVID-19. **Lanceta.** 2020; 395:1417–1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5 [Crossref](#) [Medline](#) [Google Scholar](#)

[Anterior](#)

[Volver al principio](#)

[Próximo](#)

- [Figuras](#)
- [Referencias](#)
- [Relacionado](#)
- [Detalles](#)

30 de abril de 2021 Vol 128, Número 9

Información del artículo

Métricas



[Ver más detalles](#)

[Recogido por 74 medios de comunicación](#)

[Blogonado por 11](#)

[Tuiteado por 19407](#)

[En 6 páginas de Facebook](#)

[Referenciado en 2 páginas de Wikipedia](#)

[Reddited por 14](#)

[En 11 videos](#)

211 lectores en Mendeley

Fuentes de financiación

Este trabajo fue apoyado en parte por subvenciones de la Fundación Nacional de Ciencias Naturales de China (NSFC) subvenciones 81870220 (S. Wang), 81800328 (J.Z.), 81941005 (Z.-Y. Yuan); Fondo de Ciencias Naturales de Shaanxi S2020-JC-JQ-0239 (S. Wang); El Programa Nacional Clave de Investigación y Desarrollo (Subvención No. 2018YFC1311500; Z.-Y. Yuan); el Premio de Investigación Clínica del Primer Hospital Afiliado de la Universidad Xi'an Jiaotong (Subvención No. XJTU1AF-CRF-2016-004; Z.-Y. Yuan); Apoyo financiero de la Universidad Xi'an Jiaotong.

Descargar: 747,008

- © 2021 Asociación Americana del Corazón, Inc.

<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318902>

PMID: [33784827](#)

- **Publicado originalmente el**31 de marzo de 2021

Palabras clave

- [SARS-CoV-2](#)
- [endotelio](#)
- [enzima convertidora de angiotensina 2](#)

[Descargar PDF](#)

Temas

- [ECA/Receptores de Angiotensina/Sistema de Renina Angiotensina](#)
- [Biología Vascular](#)
- [Endotelio/Tipo vascular/Óxido nítrico](#)
- [Enfermedad vascular](#)

DESTACAR
NOTA
COMENTARIO
DISCUTIR

[Atrás](#)

Investigación de circulación

AHA Jour