



EDITORIAL

La Tierra: el planeta de las anexinas

Earth: the planet of the annexins

José Martínez-González^{a,b,c,*} e Irene Corrales^{d,e}^a Instituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IIBB-CSIC), Barcelona, España^b CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Madrid, España^c Instituto de Investigación Biomédica Sant Pau (IIB-Sant Pau), Barcelona, España^d Laboratorio de Coagulopatías Congénitas, Banc de Sang i Teixits (BST), Barcelona, España^e Vall d'Hebron Institut de Recerca-Universitat Autònoma de Barcelona (VHIR-UAB), Barcelona, España

Las anexinas componen una superfamilia de proteínas conservadas evolutivamente y ampliamente extendidas en la naturaleza¹. Centenares de estas proteínas están presentes virtualmente en seres vivos de los cinco reinos, desde especies complejas de eucariotas pluricelulares a eucariotas unicelulares y diferentes formas de procariotas. La sistemática las clasifica en cinco categorías: anexina A (en vertebrados), anexina B (en invertebrados), anexina C (en hongos), anexina D (en plantas) y anexina E (en procariotas). Las primeras anexinas fueron descubiertas a finales de los años 70 y comienzos de los 80 por grupos que investigaban proteínas implicadas en andamiaje que se uniesen a membranas y a otras proteínas. Las dos características esenciales que definen a las anexinas son su capacidad de unirse a fosfolípidos de forma dependiente de Ca^{2+} , y la presencia en su extremo C-terminal de un dominio característico de secuencias repetidas de unos 70 aminoácidos. El dominio N-terminal, menos conservado, se cree que es el componente que evoluciona más rápidamente y el responsable de la variedad de funciones de estas proteínas. Su función está íntimamente ligada a su capacidad de unirse de forma dinámica y reversible a las membranas celulares, a las que estabilizan, favoreciendo las interacciones

membrana-citoplasma y los procesos endocíticos y exocíticos regulados por Ca^{2+} . Aunque la mayoría de anexinas son citoplasmáticas, existen formas nucleares y algunas relevantes a nivel cardiovascular se localizan en la superficie celular donde actúan como coreceptores o son secretadas y circulan por el torrente sanguíneo. En los seres humanos se han identificado 12 anexinas (Anx) con un patrón de expresión y distribución tisular muy variable, que se designan como AnxA1 a AnxA13 (hasta el momento no se ha asignado el gen de la AnxA12). El hecho de que modelos animales deficientes en alguna de ellas fuesen perfectamente viables sugirió en un primer momento que podrían ser altamente redundantes; sin embargo, investigaciones posteriores han revelado un alto grado de especialización que sólo ahora comenzamos a comprender². Su gran variedad y versatilidad las hacen componentes esenciales de múltiples procesos biológicos, como organización y reparación de las membranas, tráfico vesicular y transporte subcelular, metabolismo del calcio, proliferación, diferenciación, apoptosis, adhesión, migración e invasión. Su frecuente implicación en diversas patologías humanas llevó a acuñar el término "anexinopatías" para referirse a enfermedades en las que se altera la función o los niveles de alguna anexina. En los últimos años un gran número de publicaciones nos han familiarizado con anexinas implicadas en enfermedades altamente prevalentes como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, la obesidad, las enfermedades autoinmunes, el cáncer y las infecciones²⁻⁶.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jose.martinez@iibb.csic.es
(J. Martínez-González).

En este número de *Clin. Invest. Arterioscler.*, Méndez-Barbero y colaboradores⁷ presentan una exhaustiva revisión de la biología de las anexinas focalizada, sobre todo, en su impacto en la inflamación y otros mecanismos clave en el remodelado vascular asociado a la aterosclerosis, sin olvidar el papel crítico de estas proteínas en las membranas celulares y en el tráfico vesicular que las convierte en elementos esenciales en el control de la homeostasis del colesterol intracelular. Efectivamente, varias anexinas como la anexina A1, A2, A6 y A8 se han involucrado en el transporte celular de colesterol a través de la vía endocítica sobre todo a nivel de endosomas tardíos⁸. De todas ellas la AnxA6 es la que parece jugar un papel más importante en el control de la distribución de colesterol en los compartimentos intracelulares. Al regular el contenido de colesterol de las membranas las anexinas interfieren con el tráfico de las proteínas SNARE (*Soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion-Attachment protein [SNAP] Receptors*), un grupo de proteínas de membrana dependientes de colesterol que facilitan la fusión y el tráfico de vesículas encargadas del transporte de moléculas necesarias para el funcionamiento de las células. El artículo revisa los resultados publicados en las dos últimas décadas sobre las anexinas y la aterosclerosis, deteniéndose sobre todo en las anexinas A1, A2, A3, A5 y A7. Cabe destacar la AnxA1 que actúa como molécula antiinflamatoria a través de la regulación por glucocorticoides y de la activación de la respuesta inmune innata. Esta anexina disminuye la adhesión de neutrófilos al endotelio vascular y aumenta su apoptosis, a la vez que induce el reclutamiento y diferenciación de monocitos a un fenotipo antiinflamatorio, efectos que explicarían su actividad antiaterogénica³. La expresión de AnxA1 está aumentada en placas carotídeas de pacientes asintomáticos, y en modelos de aterosclerosis experimental la administración de un péptido derivado de esta proteína reduce la progresión de la aterosclerosis y estabiliza las placas, lo que subraya su papel en la aterosclerosis y su potencial terapéutico. De hecho, a medida que se avanza en el conocimiento de la AnxA1 ésta se revela más polifacética. Recientemente se ha relacionado a la AnxA1 con la agregación de vesículas extracelulares y la calcificación vascular⁹; a nivel de las plaquetas suprime la señalización por trombina, disminuye la activación del receptor α IIb β 3, y a través de la modificación selectiva de determinantes de la superficie (e.g. fosfatidilserina) promueve la fagocitosis de las plaquetas por los neutrófilos impulsando de ese modo la resolución activa¹⁰, mecanismos todos ellos importantes en la aterotrombosis. El “diálogo” entre el transportador de colesterol ABCA1 y AnxA1, cuya expresión es regulada por la ApoA1, podría contribuir también a su papel ateroprotector¹¹. En este sentido, resultados de un reciente estudio en animales de experimentación y pacientes sugieren que la AnxA1 regula el metabolismo lipídico y mejora la progresión de la nefropatía diabética¹². Respecto a la AnxA2, resulta singular su interacción con una proteína S100 (la proteína p11), gracias a lo cual actúa como receptor del plasminógeno y del activador tisular del plasminógeno (tPA), jugando un papel relevante en la fibrinólisis¹³ y modulando el efecto trombolítico del tPA⁵. Estas actividades de la AnxA2 sugieren que podría reducir la hipercoagulabilidad de la sangre y de este modo modular la aterotrombosis. Además, su expresión en macrófagos y células musculares

lisas vasculares (CMLV) se vincula con la migración de éstas en la aterosclerosis y la restenosis, y su interacción con la integrina α 5 con la respuesta inflamatoria¹⁴. Por último, no menos importante es su interacción con la proteína convertasa subtilisina/kexina tipo NF- κ B (PCSK9), a la que inhibe comportándose como un modulador endógeno, participando así en uno de los principales mecanismos de regulación de los niveles circulantes de las LDL¹⁵. En el grupo de anexinas más estudiadas y sobre las que existen más evidencias que las vinculan con la biología vascular se cuenta también la AnxA5, anexina que es secretada y circula por el torrente sanguíneo. Su habilidad para unirse a la fosfatidilserina de la membrana celular le confiere propiedades antitrombóticas, antiapoptóticas y antiinflamatorias, y la ha convertido en una herramienta imprescindible para analizar muerte celular y, en estudios de imagen molecular, para detectar placas de alto riesgo. La AnxA5 regula la polarización de los macrófagos¹⁶ y parece intervenir sobre todo en las fases iniciales de la aterogénesis¹⁷. En diferentes modelos preclínicos la administración de la proteína recombinante reduce la adhesión de leucocitos y macrófagos, y ha sido capaz de disminuir el desarrollo de lesiones ateroscleróticas y de hacerlas más estables; además de reducir la inflamación y el daño miocárdico en modelos de isquemia-reperusión¹⁸. En pacientes, los niveles circulantes de AnxA5 se han relacionado inversamente con la gravedad de la estenosis coronaria, para la que la relación oxLDL/ AnxA5 parece ser mejor marcador que los niveles circulantes de LDL. Éstos y otros resultados recogidos en la revisión de Méndez-Barbero y col. hacen de la AnxA5 una de las más interesantes como biomarcador y eventual tratamiento en la aterosclerosis y sus complicaciones.

Si bien las anexinas mencionadas hasta ahora son las que se han involucrado de forma más fehaciente con alguno de los mecanismos que operan en el inicio, progresión y complicación clínica de la aterosclerosis, otras parecen jugar también un papel importante a nivel cardiovascular. No podemos dejar de mencionar la AnxA3 por su implicación en angiogénesis y porque su silenciamiento favorece la reparación del miocardio infartado⁴ y rescata la función de las CMLV en los aneurismas intracraneales¹⁹. Finalmente, el importante papel de la AnxA7 en la homeostasis del Ca^{2+} la señala especialmente en afecciones cardíacas como la fibrilación auricular, taquicardia ventricular, arritmias y el remodelado cardíaco, sin olvidar que su inhibición reduce el tamaño de las lesiones ateroscleróticas y las estabiliza²⁰. Es evidente que el cúmulo de pruebas experimentales que avalan el potencial de las anexinas como dianas terapéuticas no hace sino aumentar día a día.

En resumen, en los ya más de 40 años que han transcurrido desde que se describieron las primeras anexinas hemos aprendido mucho sobre la compleja biología de estas proteínas, sobre su gran variedad funcional y su potencial como dianas farmacológicas, que explican el gran interés que estas proteínas suscitan en la comunidad científica internacional. Tanto es así que los avances en este campo se revisan y discuten periódicamente en congresos específicos como la biennial *International Conference on Annexins*, que tras un paréntesis obligado debido a la COVID-19 volverá a celebrarse en Estocolmo en junio del próximo año 2022 en la que será su undécima edición. Esta serie de conferen-

cias ha contribuido a difundir y dar visibilidad a la intensa labor de investigación biomédica que se viene desarrollando sobre estas proteínas. Sin duda, el futuro próximo nos deparará sorprendentes novedades sobre esta singular familia de proteínas. Esperamos que la revisión de Méndez-Barbero y col. estimule el interés por las anexinas entre los lectores de *Clin. Invest. Arterioscler.* y, en general, en todos aquellos interesados en la investigación decididamente traslacional.

Referencias

1. Fernandez MP, Garcia M, Martin-Almedina S, Morgan RO. Novel domain architectures and functional determinants in atypical annexins revealed by phylogenomic analysis. *Biol Chem.* 2017;398:751–63.
2. Grewal T, Rentero C, Enrich C, Wahba M, Raabe CA, Rescher U. Annexin animal models-from fundamental principles to translational research. *Int J Mol Sci.* 2021;22:3439.
3. de Jong RJ, Paulin N, Lemnitzer P, Viola JR, Winter C, Ferraro B, et al. Protective aptitude of Annexin A1 in arterial neointima formation in atherosclerosis-prone mice-brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37:312–5.
4. Meng H, Zhang Y, An ST, Chen Y. Annexin A3 gene silencing promotes myocardial cell repair through activation of the PI3K/Akt signaling pathway in rats with acute myocardial infarction. *J Cell Physiol.* 2019;234:10535–46.
5. Shi K, Zou M, Jia DM, Shi S, Yang X, Liu Q, et al. tPA mobilizes immune cells that exacerbate hemorrhagic transformation in stroke. *Circ Res.* 2021;128:62–75.
6. Sharma MC. Annexin A2 (ANX A2): An emerging biomarker and potential therapeutic target for aggressive cancers. *Int J Cancer.* 2019;144:2074–81.
7. Méndez-Barbero N, Gutiérrez-Muñoz C, Blázquez-Serra R, Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM. Annexins: Involvement in cholesterol homeostasis, inflammatory response and atherosclerosis. *Clin Investig Arterioscler.* 2021 Feb;20. S0214-9168(21)00012-7.
8. Rentero C, Blanco-Muñoz P, Meneses-Salas E, Grewal T, Enrich C. Annexins-coordinators of cholesterol homeostasis in endocytic pathways. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1444.
9. Rogers MA, Buffolo F, Schlotter F, Atkins SK, Lee LH, Halu A, et al. Annexin A1-dependent tethering promotes extracellular vesicle aggregation revealed with single-extracellular vesicle analysis. *Sci Adv.* 2020;6, eabb1244.
10. Senchenkova EY, Ansari J, Becker F, Vital SA, Al-Yafeai Z, Sparckenbaugh EM, et al. Novel role for the AnxA1-Fpr2/ALX signaling axis as a key regulator of platelet function to promote resolution of inflammation. *Circulation.* 2019;140:319–35.
11. Shen X, Zhang S, Guo Z, Xing D, Chen W. The crosstalk of ABCA1 and ANXA1: a potential mechanism for protection against atherosclerosis. *Mol Med.* 2020;26:84.
12. Wu L, Liu C, Chang DY, Zhan R, Zhao M, Lam SM, et al. The attenuation of diabetic nephropathy by annexin A1 via regulation of lipid metabolism through AMPK/PPAR α /CPT1b pathway. *Diabetes.* 2021 Jun;8, db210050.
13. Fassel H, Chen H, Ruisi M, Kumar N, DeSancho M, Hajjar KA. Reduced expression of annexin A2 is associated with impaired cell surface fibrinolysis and venous thromboembolism. *Blood.* 2021;137:2221–30.
14. Zhang C, Zhou T, Chen Z, Yan M, Li B, Lv H, et al. Coupling of integrin α 5 to annexin A2 by flow drives endothelial activation. *Circ Res.* 2020;127:1074–90.
15. Seidah NG, Chrétien M, Mbikay M. The ever-expanding saga of the proprotein convertases and their roles in body homeostasis: emphasis on novel proprotein convertase subtilisin kexin number 9 functions and regulation. *Curr Opin Lipidol.* 2018;29:144–50.
16. Xu F, Guo M, Huang W, Feng L, Zhu J, Luo K, et al. Annexin A5 regulates hepatic macrophage polarization via directly targeting PKM2 and ameliorates NASH. *Redox Biol.* 2020;36:101634.
17. Stöhr R, Schurgers L, van Gorp R, Jaminon A, Marx N, Reutelingsperger C. Annexin A5 reduces early plaque formation in ApoE $^{-/-}$ mice. *PLoS One.* 2017;12:e0190229.
18. de Jong RCM, Pluijmert NJ, de Vries MR, Pettersson K, Atsma DE, Jukema JW, Quax PHA. Annexin A5 reduces infarct size and improves cardiac function after myocardial ischemia-reperfusion injury by suppression of the cardiac inflammatory response. *Sci Rep.* 2018 Apr 30;8:6753.
19. Wang Y, Wang C, Yang Q, Cheng YL. ANXA3 Silencing ameliorates intracranial aneurysm via inhibition of the JNK signaling pathway. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019;17:540–50.
20. Li H, Huang S, Wang S, Zhao J, Su L, Zhao B, Zhang Y, et al. Targeting annexin A7 by a small molecule suppressed the activity of phosphatidylcholine-specific phospholipase C in vascular endothelial cells and inhibited atherosclerosis in apolipoprotein E $^{-/-}$ mice. *Cell Death Dis.* 2013;4:e806.