

El tráfico intracelular de colesterol como diana terapéutica

D. Gómez-Coronado

Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. España.

El mantenimiento de un contenido adecuado de colesterol y su correcta distribución entre las distintas membranas celulares son esenciales para la fisiología de las células de los mamíferos. Esta distribución no es homogénea, puesto que el contenido de colesterol varía ampliamente entre los orgánulos celulares, lo que guarda una estrecha relación con las distintas funciones que éstos desempeñan en el metabolismo del colesterol. Ello implica un activo transporte de esta molécula entre los distintos compartimentos celulares. Más importante para el tema que nos ocupa, este transporte tiene un papel fundamental para la homeostasis del colesterol, lo que le convierte en centro de interés para el diseño de nuevas estrategias dirigidas a tratar determinadas alteraciones de la fisiología de los lípidos. Aunque gran parte de los mecanismos que integran el tráfico intracelular de colesterol no se conocen en detalle, se han identificado diversas proteínas y procesos implicados que constituyen dianas terapéuticas potenciales.

El retículo endoplásmico (RE), característicamente pobre en colesterol, ocupa un lugar central en su tráfico, ya que no sólo es donde tienen lugar su biosíntesis y esterificación, sino que, además, este orgánulo es crucial para la regulación de su homeostasis. Esta regulación se ejerce principalmente mediante el complejo Insig-SCAP-SREBP, en el que SCAP actúa como sensor de la concentración de colesterol en el RE. Para ello, hay un trasiego bidireccional continuo de esteroides entre el RE y la membrana plasmática (MP), el mayor reservorio celular de colesterol. Un claro ejemplo de la reper-

cusión que tiene la interferencia en el tráfico al RE sobre la homeostasis celular del colesterol nos lo ofrece la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C (NPC), causada por la disfunción de NPC1 o NPC2, proteínas residentes en los endosomas tardíos y lisosomas, respectivamente¹. Las células de los pacientes con esta enfermedad tienen un defecto en el transporte lipídico en estos orgánulos, donde acumulan tanto el colesterol lipoproteínico captado mediante el receptor de LDL (rLDL) como esfingolípidos. Consecuentemente, la captación de LDL no resulta en la normal inhibición de los genes regulados por SREBP. La cesión del colesterol celular excedente a las HDL mediante transportadores de membrana como ABCA1 también se resiente de la distorsión en el tráfico intracelular. En efecto, los fibroblastos mutantes para NPC1 o NPC2 son deficientes en la generación de 25- y 27-hidroxicolesterol¹, sintetizados a partir del colesterol en el RE y el aparato de Golgi el primero y en las mitocondrias el segundo. Estos oxisteroides son activadores del receptor nuclear LXR, por lo que incrementan la expresión de ABCA1. Los compuestos anfífilicos como U18666A causan alteraciones similares a éstas en las células normales¹. Algunas evidencias experimentales sugieren posibles estrategias para tratar estas anomalías. En fibroblastos mutantes para NPC1 el transporte de colesterol y esfingolípidos parece restaurarse mediante la sobreexpresión de Rab7 o Rab9, 2 GTPasas implicadas en el tráfico vesicular en los endosomas tardíos². Por otra parte, la administración de oxisteroides puede corregir el fenotipo de los fibroblastos mutantes para NPC1, aunque es menos efectiva frente a los mutantes para NPC2¹. Si bien los mecanismos moleculares subyacentes a estos efectos no se conocen, la estimulación de la expresión o actividad de Rab7 o Rab9, así como la activación de LXR, pueden proponerse como primeras aproximaciones que hay que testar para el tratamiento de la enfermedad NPC.

Correspondencia: Dr. D. Gómez-Coronado.
Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal.
Ctra. de Colmenar, km 9,1. 28034 Madrid. España.
Correo electrónico: diego.gomez@hrc.es

A pesar de que una disfunción en el tráfico intracelular de colesterol constituye la base de esta enfermedad, la interferencia en el tráfico al RE puede tener una utilidad para el tratamiento de la hipercolesterolemia y la aterosclerosis. Se conoce que el tamoxifeno (TMX), fármaco muy utilizado en el tratamiento del cáncer de mama, posee un efecto hipocolesterolemizante, e incluso se ha documentado que protege frente a la aterosclerosis³. A este efecto hipocolesterolemizante contribuyen la inhibición de la síntesis de colesterol y la estimulación de la expresión del rLDL. Recientemente, se ha determinado que el aumento de la expresión del rLDL radica, al menos en parte, en la interferencia del TMX en el transporte lisosomal del colesterol captado con las LDL. Así, el TMX se opone al efecto represor del colesterol sobre la activación de la transcripción del gen del rLDL que media SREBP⁴. Es interesante resaltar que el tratamiento combinado de las células con TMX y lovastatina tiene efectos sinérgicos sobre la expresión y actividad del rLDL, resultados compatibles con los distintos mecanismos de acción de uno y otro fármaco. Resta por determinar cuál es la diana molecular del TMX. Estas observaciones no sólo ilustran la eficacia que tiene que incidir sobre el transporte de colesterol al RE para estimular la expresión del rLDL, sino que también permiten sugerir que la inhibición conjunta de este transporte y de la síntesis de colesterol puede ser una alternativa terapéutica para el tratamiento de la hipercolesterolemia, especialmente en los casos resistentes a la terapia simple con estatinas.

El tráfico de colesterol al RE está también implicado en la citotoxicidad y muerte celular inducidas por el exceso de colesterol (no esterificado) en el macrófago, proceso que se considera causante de la desestabilización y rotura de la placa aterosclerótica. La acumulación de colesterol en el macrófago desencadena en el RE la respuesta al estrés conocida como UPR (del inglés *unfolded protein response*), la cual, de no resolverse aquella situación, acaba induciendo apoptosis⁵. Pues bien, la supresión del transporte de colesterol al RE confiere resistencia frente a la activación de la UPR y la apoptosis inducidas por el colesterol⁵. Es más, las lesiones ateroscleróticas de los ratones con deficiencia genética parcial de NPC1 (*Npc1*^{+/-}) en un contexto propenso a la aterogenia (*apoE*^{-/-}) presentan un menor grado de apoptosis de los macrófagos que los ratones ⁶*Npc1*^{+/-}-*apoE*^{-/-}. Por lo tanto, la inhibición parcial de NPC1 pudiera proteger frente a la desestabilización de la placa de ateroma.

A pesar de ser el RE el sitio de síntesis del colesterol, este orgánulo mantiene el contenido más

bajo de este lípido en la célula, lo que indica un eficiente mecanismo de exportación de colesterol a otros compartimentos. El destino mayoritario del colesterol de nueva síntesis es la MP. Parte de este colesterol alcanza la MP integrado en las denominadas balsas lipídicas (*rafts*), complejos ricos en colesterol y esfingolípidos que también incorporan diversas proteínas. Un tipo especial de estas balsas contiene caveolina, que tiene la capacidad de unirse al colesterol. En la MP, éste queda integrado en las caveolas, para cuya formación e integridad estructural es esencial la caveolina. Desde las caveolas, el colesterol puede difundir lateralmente para diluirse en la MP o bien transferirse a aceptores extracelulares, como las HDL⁷. En este proceso puede participar el receptor *scavenger* CLA-1, o SR-BI, ubicado en las caveolas. CLA-1 también puede mediar la captación selectiva de colesterol lipoproteínico, que puede acceder al interior celular asociado a caveolina. En las caveolas se localiza, asimismo, el receptor *scavenger* CD36, importante en la captación de LDL oxidadas (LDL_{ox}). Por otro lado, se ha propuesto que las caveolas median el tráfico transcelular de LDL o LDL_{ox} a través del endotelio, posiblemente unidas a CD36⁸. Se han identificado 3 isoformas de caveolina, de las que caveolina-1 (*cav-1*) y *cav-2* tienen una amplia distribución tisular, mientras que la expresión de *cav-3* está restringida a los músculos esquelético y cardíaco. El grado de expresión de *cav-1*, la más estudiada de las 3, se correlaciona directamente con el contenido celular de colesterol, y las estatinas inhiben esta expresión. Todo ello motiva que a las caveolinas se les asigne un papel en el tráfico y la homeostasis celulares del colesterol. Sin embargo, es preciso reseñar que las caveolinas tienen, además, otras funciones, ya que en las caveolas interaccionan con multitud de proteínas implicadas en la señalización celular⁹.

Los mecanismos de regulación de la expresión de las caveolinas se desconocen en gran medida. En el presente número de CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS, Llaverias et al documentan que la rosiglitazona, un activador de PPAR γ , estimula la expresión de *cav-1* en macrófagos THP-1, e identifican un elemento de respuesta a PPAR en el promotor del gen de esta proteína¹⁰. La capacidad de PPAR γ para incrementar la expresión de *cav-1* en distintos tipos celulares ya se conocía. El trabajo de Llaverias et al amplía tal efecto a los macrófagos y, lo que es más relevante, indica que el mecanismo implicado consiste, al menos en parte, en la activación directa de la transcripción del gen de *cav-1*. Además, estos autores muestran que el feno-

fibrato, activador de PPAR α , también aumenta la cantidad del mRNA de cav-1, por lo que este efecto no sería específico de PPAR γ ¹⁰.

En relación con el tema que nos ocupa, estas observaciones plantean 2 cuestiones fundamentales: ¿afectan los agonistas de los PPAR α y γ al tráfico intracelular de colesterol? Y, en segundo lugar, ¿cuál es el papel que desempeña el aumento de la expresión de cav-1 en los efectos de estos PPAR sobre la fisiopatología del colesterol? La estimulación de la expresión de cav-1 por estos agonistas pudiera integrarse en la activación de la excreción del colesterol celular que inducen en los macrófagos. Así, los fibratos y las glitazonas incrementan la expresión de CLA-1 y, mediante la inducción de la expresión de LXR α , de ABCA1, efectos que pueden contribuir al aumento en la concentración de colesterol-HDL que aquellos inducen¹¹. La estimulación simultánea de la expresión de cav-1 pudiera aumentar la capacidad de transporte del colesterol intracelular a la MP y, así, su disponibilidad para CLA-1 en las caveolas y para ABCA1 fuera de éstas. Por otro lado, el aumento de la expresión de cav-1 pudiera incrementar el número de caveolas requeridas para alojar al creciente número de receptores CLA-1. Todos estos mecanismos favorecerían la cesión del colesterol celular a las HDL. Debe indicarse, no obstante, que los estudios acerca del efecto de la expresión de cav-1 sobre la excreción del colesterol celular arrojan resultados contradictorios^{8,12}. Otro aspecto en el que pudiera influir la expresión de cav-1 es en la función de CD36⁸. La activación de PPAR γ estimula la expresión de CD36 y, con ello, la captación de LDLox por los macrófagos¹¹. La mayor expresión de cav-1 podría proveer de más sitios para el anclaje y la actividad de CD36. Para responder a estas cuestiones se requieren estudios dirigidos a averiguar los efectos del tratamiento con agonistas de PPAR α o γ sobre el tráfico intracelular de colesterol y, en su caso, cav-1, y sobre los procesos de excreción y captación de colesterol, utilizando tanto macrófagos normales como deficientes en cav-1.

Cabe preguntarse si la influencia sobre la expresión de cav-1 es relevante para los efectos antiaterogénicos que se les atribuyen a los PPAR α y γ ^{11,13}. Los estudios de Frank et al¹⁴ con ratones genéticamente nulos para cav-1 (*cav-1*^{-/-}) en el contexto *apoE*^{-/-} hablan en contra de esta posibilidad. Así, en los ratones *cav-1*^{-/-}*-apoE*^{-/-}, a pesar de incrementarse las concentraciones de colesterol en VLDL y LDL, se redujo notablemente el tamaño de las lesiones ateroscleróticas aórticas respecto a los ratones *cav-1*^{+/-}*-apoE*^{-/-}, lo que sugiere que cav-1 favo-

rece la aterogenia. Además, la ausencia de cav-1 se asoció a una drástica disminución de la expresión de CD36 en la pared aórtica, por lo que Frank et al propusieron que la deficiencia de este receptor reduciría el tráfico transcelular de LDL a través del endotelio hasta la íntima, o bien disminuiría la captación de LDLox por los macrófagos en este lugar. Sin embargo, la estimulación de la expresión de cav-1 y CD36 no son óbice para el efecto antiaterogénico de PPAR γ . Una posible explicación a esta aparente discrepancia es que cav-1 y CD36 favorezcan la infiltración de LDL en la pared arterial y la acumulación de colesterol en los macrófagos, pero que la activación de la cesión del colesterol celular a las HDL mediante agonistas de los PPAR prevenga, en definitiva, el desarrollo de la estricta grasa. No puede descartarse, sin embargo, que la deficiencia de CD36 no sea el factor crítico para el efecto antiaterogénico asociado a la ausencia de cav-1. Estas cuestiones deben resolverse en futuros estudios.

Según lo expuesto, hay evidencias del potencial terapéutico que puede tener la manipulación del tráfico intracelular de colesterol. Se requiere, no obstante, un conocimiento más profundo de los mecanismos implicados en el transporte de colesterol, así como determinar los posibles efectos adversos asociados a estos tratamientos.

Bibliografía

1. Ory DS. The Niemann-Pick disease genes; regulators of cellular cholesterol homeostasis. Trends Cardiovasc Med. 2004;14:66-72.
2. Choudhury A, Domínguez M, Puri V, Sharma DK, Narita K, Wheatley CL, et al. Rab proteins mediate Golgi transport of caveola-internalized glycosphingolipids and correct lipid trafficking in Niemann-Pick C cells. J Clin Invest. 2002;109:1541-50.
3. Osborne CK, Zhao H, Fuqua SA. Selective estrogen receptor modulators: structure, function, and clinical use. J Clin Oncol. 2000;18:3172-86.
4. Suárez Y, Fernández C, Gómez-Coronado D, Ferruelo AJ, Dávalos A, Martínez-Botas J, et al. Upregulation of low-density lipoprotein receptor activity by tamoxifen and lovastatin. Cardiovasc Res. 2004;64:346-55.
5. Feng B, Yao PM, Li Y, Devlin CM, Zhang D, Harding HP, et al. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. Nat Cell Biol. 2003;5:781-92.
6. Feng B, Zhang D, Kuriakose G, Devlin CM, Kockx M, Tabas I. Niemann-Pick C heterozygosity confers resistance to lesion necrosis and macrophage apoptosis in murine atherosclerosis. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100:10423-8.
7. Simons K, Ikonen E. How cells handle cholesterol. Science. 2000;290:1721-6.
8. Frank PG, Lisanti MP. Caveolin-1 and caveolae in atherosclerosis: differential roles in fatty streak formation and neointimal hyperplasia. Curr Opin Lipidol. 2004;15:523-9.
9. Cohen AW, Hnasko R, Schubert W, Lisanti MP. Role of caveolae and caveolins in health and disease. Physiol Rev. 2004;84:1341-79.
10. Llaverias G, Vázquez-Carrera M, Sánchez RM, Noe V, Ciudad CJ, Laguna JC, et al. Rosiglitazone upregulates caveolin-1 expression in THP-1 cells through a PPAR-dependent mechanism. J Lipid Res. 2004;45:2015-24.

11. Ricote M, Valledor AF, Glass CK. Decoding transcriptional programs regulated by PPARs and LXRs in the macrophage: effects on lipid homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:230-9.
12. Gargalovic P, Dory L. Caveolins and macrophage lipid metabolism. *J Lipid Res.* 2003;44:11-21.
13. Marx N, Duez H, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res.* 2004;94:1168-78.
14. Frank PG, Lee H, Park DS, Tandon NN, Scherer PE, Lisanti MP. Genetic ablation of caveolin-1 confers protection against atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:98-105.