

Statins inhibit HIV-1 infection by down-regulating Rho activity

Las estatinas inhiben la infección por el VIH-1 reduciendo la actividad de las proteínas Rho

G. del Real, S. Jiménez-Baranda, E. Mira, R.A. Lacalle, P. Lucas, C. Gómez-Mouton, et al.

***J Exp Med.* 2004;200:541-7.**

La capacidad infecciosa del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) 1 requiere el agrupamiento dependiente de actina de receptores asociados a balsas lipídicas del huésped, un proceso que podría estar ligado a la activación de la actividad guanosina trifosfatasa (GTPasa) de Rho. La actividad GTPasa de Rho puede ser regulada negativamente por estatinas, una familia de fármacos utilizados en el tratamiento de las hipercolesterolemias. Las estatinas median la inhibición de la actividad GTPasa de Rho, impidiendo la prenilación de proteínas G pequeñas a través del bloqueo de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa. Hemos demostrado que las estatinas disminuyen la carga viral e incrementan el número de células CD4⁺ en modelos de infección aguda y en pacientes infectados crónicamente por el VIH-1. La entrada y la salida del virus disminuyó en células tratadas con estatinas y esta inhibición fue bloqueada tras la adición de L-mevalonato o de geranilgeranilpirofosfato, pero no tras la adición de colesterol. El tratamiento de las células con un inhibidor de la transferasa de geranilgeranil, pero no con un inhibidor de la transferasa de farnesil, inhibió selectivamente la entrada celular de los virus seudotipificados VIH-1. Las estatinas bloquearon la activación de Rho-A inducida por la unión de VIH-1 a las células diana, y la expresión del mutante negativo dominante RhoN19 inhibió la fusión de la envoltura del VIH-1 con las membranas de las células diana, reduciendo las tasas de infección. Sugerimos que las estatinas tienen un efecto directo anti-VIH-1 por acción directa sobre Rho.

COMENTARIO

El reciente artículo de G. del Real et al plantea un nuevo efecto potencialmente beneficioso del tratamiento con estatinas, en este caso en el contexto de pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Los autores muestran de forma convincente la capacidad de las estatinas de modular la replicación del VIH in vitro y en un modelo murino experimental. Finalmente, los autores evalúan de modo preliminar la posible repercusión del tratamiento con estatinas en pacientes infectados por el VIH, hecho que ha tenido una amplia repercusión en los medios de comunicación generales. Ambas partes del trabajo merecen un comentario diferenciado.

Las estatinas fueron capaces de modular diversas fases de la infección por el VIH en estudios in vitro. La lovastatina inhibe la infección de células mononucleares y globalmente la replicación viral en estas células, de modo reversible por mevalonato. Este efecto global anti-VIH fue posible a pesar de que la lovastatina, por el contrario, favorece la transcripción del genoma viral en células ya infectadas. Los efectos de lovastatina fueron revertidos por la adición de mevalonato o geranilgeranilpirofosfato, pero no por otros derivados de la vía del ácido mevalónico, como el farnesilpirofosfato o el propio colesterol. En las condiciones experimentales descritas, los efectos de lovastatina se asociaron con la inhibición de la isoprenilación de proteínas de la familia Rho. El papel crucial de Rho se ve ratificado por la inhibición de la entrada del virus en células que expresan un mutante dominante negativo de Rho. Las mediciones de colesterol celular no mostraron diferencias entre las células tratadas con lovastatina o vehículo. Sin embargo, el tratamiento con lovastatina se asoció con una notable reducción de la proporción de colesterol esterificado. Los autores concluyen que, si bien un posible papel del colesterol esterificado en la infección celular por el VIH no puede ser excluido, los datos apuntan de modo mucho más consistente al papel del geranilgeranilpirofosfato y proteínas Rho. Por tanto, la lovastatina demuestra de nuevo, como otras estatinas, su utilidad como "sonda molecular" que interfiere con la activación de proteínas preniladas en una variedad de mecanismos celulares, en este caso la entrada del VIH en células mononucleares. En el ámbito de la aterosclerosis, las estatinas, muy específicamente las lipofílicas, han demostrado su capacidad de acción en diversas fases de la fisiopatología de la formación de la placa y sus complicaciones a través de su efecto sobre Rho: multiplicación y apoptosis de células musculares lisas, reclutamiento de células mononucleares y trombosis¹⁻⁴.

El siguiente paso es la posible repercusión in vivo de los hallazgos in vitro. En el presente artículo, el pretratamiento con estatinas (en este caso lovastatina, a dosis de 5 mg/kg cada 3 días) se asoció con una reducción de la carga viral en un modelo murino. Asimismo, el tratamiento se asoció con una atenuación de la pérdida de linfocitos CD4, lo que sugiere que el efecto inhibidor de la replicación viral tiene un efecto protector sobre los linfocitos. No se proporcionan datos acerca de los posibles cambios lipídicos en el modelo murino, por lo que serían plausibles mecanismos tanto dependientes como independientes de la acción hipolipemiente. En otros modelos experimentales, las estatinas han mostrado la capacidad de modular diversas respuestas celulares de modo independiente de su acción hipolipemiente.

Por último, el aspecto más preliminar del artículo, pero más provocador, ha tenido una repercusión que ha desbordado los límites de las revistas científicas. Los autores presentan a modo de "prueba de concepto", 2 estudios preliminares realizados en humanos. El primero de ellos, es un estudio ex vivo, en el que se muestra una menor capacidad de infección por el VIH de células mononucleares de sangre periférica de 7 voluntarios sanos, después de 2 semanas de tratamiento con 40 mg de pravastatina.

En el segundo se evalúa la evolución de la carga viral y la cifra de linfocitos CD4 de 6 pacientes con infección por el VIH en situación basal, tras 1 mes de tratamiento con 40 mg diarios de lovastatina y 3 meses después de suspenderlo, en ausencia de cualquier otro tratamiento antirretroviral. Si bien los autores eluden una elaboración estadística de los resultados, sus datos muestran una reducción de la carga viral en el curso del tratamiento con lovastatina y una elevación, no significativa, de la cifra de linfocitos CD4. Si bien la reducción de la carga viral alcanza la significación estadística, su magnitud es muy limitada (0,6 unidades logarítmicas de copias por ml), habitualmente considerada como poco relevante desde el punto de vista clínico. Está claro que los hallazgos experimentales y los datos clínicos preliminares deben servir de base para la realización de estudios controlados. Sin embargo, cabe destacar que, incluso si se confirmaran estos hallazgos, la magnitud del efecto de las estatinas hace altamente improbable que estos fármacos puedan ser el núcleo central del tratamiento antirretroviral, como se ha sugerido. Dado que se está preconizando un uso cada vez más amplio de las estatinas en pacientes con infección por el VIH, en especial por el perfil lipídico aterogénico asociado con el tratamiento con inhibidores de la proteasa, el efecto de las estatinas tanto en la farmacocinética de los antirretrovirales como su efecto directo sobre la replicación viral deben ser adecuadamente investigados.

El presente estudio, preliminar, pero provocador, ofrece más preguntas que respuestas. ¿Tienen las estatinas un efecto modulador en la infección por el VIH? ¿Cuál es efecto predominante a medio-largo plazo del efecto dual de las estatinas: inhibición de la infección celular o estímulo de la replicación viral? El efecto de las estatinas ¿es un efecto de clase o varía según el tipo de estatina (lipofílica frente a hidrofílica)? ¿Se trata de un efecto independiente de la acción hipolipemiente? ¿Cuál es la repercusión del tratamiento con estatinas en pacientes tratados con una combinación compleja de fármacos antirretrovirales con múltiples interacciones medicamentosas potenciales?

C. Guijarro

Bibliografía

1. Laufs U, Marra D, Node K, Liao JK. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors attenuate vascular smooth muscle proliferation by preventing rho GTPase-induced down-regulation of p27(Kip1). *J Biol Chem*. 1999;274:21926-31.
2. Guijarro C, Blanco-Colio LM, Ortego M, Alonso C, Ortiz A, Plaza JJ, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. *Circ Res*. 1998;83:490-500.
3. Ortego M, Bustos C, Hernández-Presa MA, Tuñón J, Díaz C, Hernández G, et al. Atorvastatin reduces NF-kappaB activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis*. 1999;147:253-61.
4. Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Luscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation*. 2002;105:1756-9.

El enriquecimiento en apolipoproteína apo A-II desplaza la paraoxonasa de la HDL y dificulta sus propiedades antioxidantes. Un nuevo mecanismo que relaciona la composición proteica de la HDL y el potencial antiaterogénico

Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties. A new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential

V. Ribas, J.L. Sánchez-Quesada, R. Anton, M. Camacho, J. Julve, J.C. Escola-Gil, et al.

Circ Res. 2004;95:789-97.

La apolipoproteína A-II (apo A-II), la segunda apolipoproteína mayoritaria en las lipoproteínas de alta densidad (HDL), se ha relacionado con la hiperlipemia familiar combinada. Los ratones transgénicos para la apo A-II humana constituyen un modelo animal de esta enfermedad proaterogénica. Se estudia la capacidad de la HDL de los ratones transgénicos para la apo A-II humana como protectora frente a la modificación oxidativa de las lipoproteínas que contienen apo B. Tras una dieta aterogénica, los antígenos relacionados con la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se incrementaron de forma notable en las aortas de los ratones transgénicos 11.1 (con alta expresión de apo A-II humana). Las HDL de los ratones control y de los ratones transgénicos 11.1 se incubaron, en condiciones oxidativas, con lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) autólogas, o con LDL humanas. El grado de modificación oxidativa de las lipoproteínas apo B se evaluó a continuación mediante medidas de la movilidad electroforética relativa, la fluorescencia de la diclorofluoresceína, el contenido en ácidos 9- y 13-hidroxi-octadecadienoicos y la cinética de dienos conjugados. En todas estas diferentes aproximaciones, y en contraste con los ratones control, la HDL de los ratones transgénicos 11.1 fue incapaz de proteger las LDL de las modificaciones oxidativas. En las HDL de los ratones transgénicos 11.1 se detectó una reducción del contenido en apoA-I, y en las actividades de la paraoxonasa (PON1) y la acetil hidrolasa del factor activado de plaquetas. La expresión génica hepática de estas proteínas asociadas con las HDL no se diferenció de la de los ratones control. Por el contrario, la incubación a 37 °C de apo A-II humana aislada con plasma de ratones control redujo la actividad PON1 y desplazó la enzima de la HDL. Por tanto, la sobreexpresión de la apo A-II humana en ratones dificulta la capacidad de la HDL para proteger a las lipoproteínas que contienen apo B de la oxidación. Además, el desplazamiento de la PON1 por la apo A-II podría explicar, al menos en

parte, por qué la PON1 se encuentra mayoritariamente en las partículas HDL con apo A-I y sin apo A-II, así como las débiles propiedades antiaterogénicas de las HDL ricas en apo A-II.

COMENTARIO

Desde que hace unos años se descubrió que una enzima asociada a las HDL, llamada paraoxonasa 1 (PON1) degradaba los lípidos oxidados presentes en las partículas de LDL, ha habido una auténtica explosión de investigación sobre esta, todavía, misteriosa enzima¹. PON1 es una éster hidrolasa que degrada algunos xenobióticos, además de los peróxidos de lípido. Su actividad está notablemente influida por varios polimorfismos en las regiones codificante y promotora de su gen. La actividad PON1 depende también del microentorno en el que está ubicada. Por ejemplo, se sabe que la presencia de calcio en el medio es imprescindible para mantener la capacidad de la enzima de degradar algunos organofosforados, y se sabe también que, cuando se purifica la PON1 y se la libera del entorno hidrofóbico en el que se encuentra en las HDL, pierde rápidamente su estructura y actividad. La composición lipídica y apoproteica de las partículas de HDL es determinante para PON1. Recientemente se ha descrito que PON1 no está presente de forma homogénea en todas las subfracciones de HDL, sino que es más frecuente en las partículas de densidades comprendidas entre 1,175 y 1,185 kg/l, las menos densas de las que contienen apolipoproteínas E y J². También se sabe que las partículas de HDL más ricas en apo A-II son las que tienen menos actividad PON1³.

En este contexto se inscribe el interesante trabajo de Ribas et al. Estos autores realizaron una serie muy completa de experimentos en ratones transgénicos que sobreexpresaban apo A-II humana, y que fueron sometidos a una dieta proaterogénica. Su principal conclusión es que estos animales presentaban una inhibición del 50% de la actividad PON1, mientras que su HDL no fue capaz de proteger la LDL de la oxidación tan eficazmente como la de ratones de control no modificados genéticamente. Además, los ratones transgénicos presentaban unas lesiones en la aorta mucho más graves que las de los animales control y más ricas en lípidos oxidados. Parece ser, pues, que la ausencia de apo A-II es muy importante para que PON1 pueda ejercer correctamente su acción antioxidante y ateroprotectora.

No se conoce aún con seguridad la estructura tridimensional de PON1 ni cómo funciona su centro activo, pero gracias a trabajos como los de Ribas et al se empiezan a esclarecer las relaciones de PON1 con su microentorno.

J. Camps

Bibliografía

1. Mackness M, Mackness B. Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important? Free Rad Biol Med. 2004; 37:1317-23.

2. Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W. Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions. Clin Chem. 2004;50:2309-315.
3. Blatter-Garin MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. Eur J Biochem. 1993;211:871-9.

Elevación consistente en plasma del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad en niños en España, un país con baja mortalidad cardiovascular

Consistently high plasma high-density lipoprotein-cholesterol levels in children in Spain, a country with low cardiovascular mortality

C. Garcés, A. Gil, M. Benavente, E. Viturro, B. Cano y M. de Oya

Metabolism. 2004;53:1045-7.

La mortalidad por enfermedad cardíaca coronaria (ECC) es relativamente baja en España, en comparación con otros países desarrollados, y ha permanecido baja a pesar del aparente incremento en los últimos años de las concentraciones medias de colesterol en plasma en los adultos. Es aceptado que los procesos patológicos relacionados con el desarrollo de la arteriosclerosis se inician en la infancia y parecen relacionarse con la presencia de factores de riesgo cardiovascular a esa edad. En los diferentes países estudiados, los valores de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) en niños se han correlacionado de forma inversa con la incidencia de ECC. El perfil de las lipoproteínas plasmáticas en niños puede contribuir a la baja mortalidad por ECC en España. Por ello, se analizan los datos de los valores lipídicos en los niños escolarizados en España durante la última década. Las concentraciones lipídicas plasmáticas se analizaron en los niños prepuberales (de 6 a 8 años) en 3 muestreos realizados por nuestro grupo en Madrid en 1987, 1993 y 1999. Se observó en los niños prepuberales un incremento significativo en el colesterol plasmático total ($p < 0,05$) y en el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) ($p < 0,01$) durante la última década. No obstante, la concentración media plasmática de cHDL permaneció estable y muy alta. Estos valores plasmáticos muy altos de cHDL en los niños escolarizados españoles podrían ayudar a explicar por qué la tasa de mortalidad por enfermedad cardíaca coronaria en España es baja, en comparación con la que presentan otros países desarrollados.

COMENTARIO

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son complejos macromoleculares compuestos aproximadamente por un 50% de lípidos y un 50% de proteínas, sobre todo apolipoproteínas (apo) A-I y apo A-II. Diferentes estudios epidemiológicos realizados en las últimas 3 décadas han demostrado de forma evidente que el colesterol transportado en las partículas de alta densidad (cHDL) se relaciona de forma intensa, inversa e independiente con el riesgo de enfermedad arteriosclerótica, especialmente de enfermedad coronaria prematura.

En una población como la española los percentiles 10 y 90 de concentración plasmática de cHDL varían en torno a 30 mg/dl. Esta variación normolipémica en las concentraciones de lípidos es el resultado de complejas interacciones entre genes y ambiente que puede cuantificarse gracias al estudio de núcleos familiares y la correlación entre los diferentes miembros. En el estudio de la contribución genética y ambiental son especialmente importantes los trabajos realizados en gemelos monocigotos y dicigotos, según compartan o no un mismo ambiente familiar. Iliadou, tras analizar 725 pares de gemelos suecos de edades comprendidas entre 17 y 85 años, demostraron que la heredabilidad de la apolipoproteína A-I (apo A-I), principal proteína de las HDL, es de aproximadamente el 50%. Resultados semejantes han sido publicados por otros autores.

El conocimiento del complejo metabolismo de las partículas HDL ha experimentado un avance muy importante en los últimos años, a pesar de lo cual los mecanismos por los que la concentración de cHDL se relacionan de forma inversa con la enfermedad cardiovascular todavía no están totalmente establecidos. Las partículas HDL son heterogéneas en tamaño, densidad, carga eléctrica, composición lipídica y en apolipoproteínas, como resultado de la interacción de múltiples factores endógenos y exógenos. Posiblemente, la concentración sérica de las partículas HDL más grandes y menos densas pueden mejorar la pre-

dicción de riesgo de enfermedad cardiovascular, si bien es posible que sea debido a su asociación con LDL pequeñas y densas.

Garcés et al describen en este interesante artículo los valores de lípidos en niños españoles en los años 1987, 1993 y 1999. A pesar de que las muestras estudiadas tienen distinta procedencia (estudio del barrio del Pilar de Madrid, estudio de la Comunidad de Madrid y estudio Cuatro Provincias), encuentran valores medios similares.

Desconocemos si hay diferencias en la distribución por sexos, el nivel socioeconómico, el hábito deportivo o el peso. Independientemente de estos posibles sesgos, la media del cHDL es elevada, idéntica en las diversas cohortes estudiadas, y se mantiene con el tiempo. Parece que el cHDL "resiste" los cambios en los hábitos dietéticos, el sedentarismo y el sobrepeso que tienen cada vez mayor prevalencia en la población infantil española. Los autores afirman que es posible que la contribución de los factores genéticos ofrezcan un cierto grado de protección a los niños españoles.

El colesterol en nuestro país es similar al de los países vecinos. A pesar de ello, al comparar sus tasas con las de países con una prevalencia similar de factores de riesgo, la mortalidad actual por enfermedad cardiovascular es más baja. El análisis de la implicación de los factores de riesgo en la aparición de arteriosclerosis debe tener en cuenta su temporalidad. Éstos podrían no coexistir, y ser posterior la presentación clínica del fenómeno arteriosclerótico.

Este artículo describe ciertos aspectos que explicarían cómo las altas concentraciones plasmáticas de cHDL encontradas en los niños españoles y también en población adulta (estudio DRECE) pueden implicar cierta protección para la enfermedad cardiovascular. El estudio Cuatro Provincias ofrece un magnífico escenario para observar la influencia de los factores genéticos y ambientales en esta población tan "vulnerable".

J. Puzo