

Trombospondina: ¿un nuevo mediador de las estatinas en el endotelio?

J. Martínez-González

Centro de Investigación Cardiovascular. CSIC/ICCC. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas) son fármacos eficaces en el tratamiento de la hipercolesterolemia, ya que reducen la morbi-mortalidad cardiovascular en prevención primaria y secundaria. Aunque el efecto clínico se atribuye principalmente a la reducción de los valores plasmáticos de colesterol, algunos estudios clínicos y muchos estudios experimentales sugieren que parte de su actividad cardioprotectora puede deberse a una combinación de efectos pleiotrópicos¹. Estos efectos son específicos y se deben a que la inhibición de la biosíntesis de mevalonato modula la disponibilidad de compuestos que intervienen en diversas funciones celulares. En particular, los isoprenoides farnesil pirofosfato (FPP) y geranilgeranil pirofosfato (GGPP) son clave para pequeñas proteínas unidas a GTP (Rho, Ras, Rab, Rac, etc.) que, gracias a ellos, se localizan en las membranas y regulan procesos de transducción de señal y expresión génica, organización de citoesqueleto, transporte vesicular y tránsito a través de membranas, entre otros¹.

Varios estudios han mostrado la capacidad de las estatinas, lovastatina, simvastatina y cerivastatina de reducir la expresión y secreción de trombospondina-1 (TSP-1) por parte de las células musculares lisas vasculares (CMLV)^{2,3}. Este efecto es específico, pues lo revierte el mevalonato, es dependiente de la dosis y no se observa sobre otras glucoproteínas componentes de la matriz extracelular (MEC), como la fibronectina³. La reducción de la producción de TSP-1 por las CMLV parece ser el resultado de la acción de las estatinas sobre dos mecanismos distintos y aparentemente indepen-

dientes: la reducción de la expresión y la inhibición de la secreción, efecto, este último, que requiere dosis de fármaco ligeramente superiores³. A estos estudios se suma el publicado por la Dra. Martínez-Sales et al⁴ en este número de CLÍNICA E INVESTIGACIÓN EN ARTERIOSCLEROSIS, que es el primer estudio en el que se describe que una estatina (atorvastatina) reduce la producción (expresión y secreción) de TSP-1 por las células endoteliales.

La TSP-1 es una glucoproteína homotrimérica de alto peso molecular (150 kDa/monómero), secretada por diferentes tipos celulares, como fibroblastos, macrófagos, CMLV y células endoteliales, que forma parte de la MEC y que está presente en los gránulos α de las plaquetas⁵. TSP-1 fue el primer miembro identificado de una familia de glucoproteínas que se expresan significativamente y diferencialmente durante el desarrollo y en menor grado en tejidos adultos sanos⁵. La expresión de TSP-1 aumenta enormemente durante la cicatrización y remodelado tisular, después de intervenciones intravasculares y en diferentes situaciones patológicas como el cáncer, la osteoartritis y la aterosclerosis. TSP-1 tiene una estructura modular con 1 dominio de unión a heparina, 1 dominio de oligomerización, 1 módulo tipo procolágeno, 3 secuencias repetitivas tipo I, 3 secuencias tipo EGF, 1 dominio de unión a calcio y 1 dominio C-terminal globular. TSP-1 es una proteína multifuncional que actúa como "facilitador molecular", ya que a través de sus diferentes dominios se une a receptores celulares (tipo integrina, i.e. $[\alpha_v\beta_3]$ y no integrina, [i.e. CD36]), a componentes de la MEC, a proteasas extracelulares y a factores de crecimiento⁵. Cada uno de sus dominios soporta funciones diferentes, y en algunos casos exhiben actividades biológicas opuestas; de hecho, se han descrito actividades antiinflamatorias⁶ frente a proinflamatorias⁷ y antiangiogénicas^{8,9} frente a proangiogénicas¹⁰. El efecto, en muchos casos, depende de la célula sobre la que actúa, por ejemplo, inhibe la migración y prolifera-

Correspondencia: Dr. J. Martínez-González.
Centro de Investigación Cardiovascular. CSIC/ICCC.
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
Sant Antoni Maria Claret, 167. 08025 Barcelona. España.
Correo electrónico: jmartinezg@csic-iccc.santpau.es

ción de las células endoteliales⁹ y, en cambio, estimula la migración y proliferación de las CMLV¹¹ para las que se considera uno de los principales mitógenos secretados por las plaquetas¹¹. En este sentido, en un reciente estudio realizado en nuestro laboratorio, cuyo objetivo era identificar nuevos genes regulados diferencialmente por mitógenos en CMLV, comprobamos que TSP-1 era uno de los genes que en mayor medida se inducía en CMLV activadas (datos no publicados).

En este contexto, el efecto inhibitorio de la atorvastatina sobre la expresión y secreción de TSP por las células endoteliales demostrado por Martínez-Sales et al⁴ podría tener varias consecuencias potencialmente importantes sobre la fisiología de la pared vascular: a) regular la reendotelización; b) modular la angiogenia, y c) actuar como mediador autocrino en la expresión de moléculas de adhesión. En primer lugar, si tenemos en cuenta que TSP-1 ejerce efectos antagónicos sobre la migración/proliferación de las CMLV y de las células endoteliales, como ya se ha comentado, la reducción de la producción de TSP-1 por las estatinas en las células vasculares podría favorecer procesos de reendotelización y prevenir una proliferación excesiva de las CMLV. De hecho, en el modelo de dilatación con balón de las arterias carótidas de rata se ha observado que anticuerpos anti-TSP-1 aceleran la reendotelización y reducen la formación de neointima¹². Aunque el aumento de la reendotelización inducido por las estatinas en animales de experimentación se atribuye a la movilización de células endoteliales progenitoras de la médula¹³, la potencial modulación de TSP-1 por las estatinas en la pared vascular permite plantear la hipótesis de una contribución de las propias células endoteliales vasculares en este proceso. Respecto a una posible modulación de la angiogénesis por las estatinas a través de la inhibición de la producción de TSP-1 por las células vasculares, hay que resaltar la complejidad de los mecanismos moleculares a través de los que las estatinas modulan la angiogénesis. Efectivamente, las estatinas en dosis bajas promueven la angiogenia, mientras que en dosis superiores la inhiben^{14,15}. El rango de concentraciones a las que se observa esta dualidad de las estatinas, demostrada tanto *in vitro* como *in vivo*, depende de la estatina utilizada, del tipo de célula endotelial y de las condiciones experimentales^{16,17}. En el caso de la atorvastatina se ha observado que concentraciones > 0,1 μM inhiben la angiogénesis en células micro y macrovasculares^{14,15}. Concretamente, Urbich et al¹⁵ demostraron que la atorvastatina inhibía la angiogenia e inducía apoptosis de

células endoteliales humanas de cordón umbilical (HUVEC), las mismas células que utilizan Martínez-Sales et al⁴ en su estudio, y a dosis similares ($\geq 0,1 \mu\text{M}$). Si consideramos de forma aislada que a estas dosis la atorvastatina inhibe la producción de TSP-1 por las células endoteliales⁴, el resultado resulta ciertamente paradójico, pues aunque se han descrito efectos pro y antiangiogénicos de TSP-1 en células en cultivo, TSP-1 se considera uno de los principales moduladores negativos de la angiogénesis *in vivo*¹⁸. Sin embargo, hemos de tener en cuenta que las estatinas modulan la expresión de otras moléculas implicadas en el proceso angiogénico que podrían balancear los mecanismos a través de los que actúa la propia TSP-1. Efectivamente, las estatinas, entre otros muchos efectos antiangiogénicos, reducen la expresión de la integrina $\alpha_v\beta_3$ ¹⁹, integrina que desempeña un papel clave en la angiogénesis, y de la que TSP-1 es un antagonista natural al que se une por su extremo C-terminal y lo bloquea⁸. Por tanto, hay que contemplar la reducción de TSP-1 por las estatinas como un mecanismo más a través del cual las estatinas modulan procesos complejos como la angiogénesis, que implican cambios importantes en la fisiología de las células endoteliales. Finalmente, de acuerdo con datos publicados recientemente por Narizhneva et al⁷, TSP-1 interacciona con CD47, induce la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina) e incrementa la adhesión de monocitos. Además, estos autores observaron que una citocina proinflamatoria (TNF- α) induce la expresión de estas moléculas de adhesión a través de un aumento de la secreción endógena (autocrina) de TSP-1 de las células endoteliales⁷. Por tanto, la reducción de la producción de TSP-1 por atorvastatina podría contribuir a explicar la reducción de la expresión de ciertas moléculas de adhesión observada en algunos estudios clínicos y en animales de experimentación tratados con estatinas^{20,21}.

Además de los mecanismos considerados anteriormente, en los que TSP podría actuar como mediador autocrino de los efectos de las estatinas en el endotelio, no debe olvidarse el papel clave de TSP, tanto la liberada *in situ* por las plaquetas al activarse como la secretada por las células endoteliales al espacio subendotelial, en el reclutamiento de las plaquetas y en la adherencia del trombo²². El estudio de Martínez-Sales et al, por tanto, suscita un gran interés y anima a que en el futuro otros trabajos confirmen y amplíen el efecto de las estatinas en otras células endoteliales humanas, tanto de vasos de gran calibre como de microvasos. Ello es

importante, porque en las HUVEC la síntesis de TSP-1 parece depender del tipo de sustrato sobre el que se cultivan y de su estado proliferativo²³, y hemos de tener presente que las estatinas inhiben vías de señalización implicadas en la proliferación. Sin duda, nuevos estudios permitirán determinar si la reducción de TSP por las estatinas es un mecanismo relevante a través del cual estos fármacos modulan la función endotelial, que es quizá uno de los efectos pleiotrópicos de las estatinas mejor estudiado y más ampliamente reconocido.

Bibliografía

1. Liao JK. Effects of statins on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition beyond low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol.* 2005;96:24F-33F.
2. Riessen R, Axel DI, Fenchel M, Herzog UU, Rossmann H, Karsch KR. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on extracellular matrix expression in human vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol.* 1999;94:322-32.
3. Siegel-Axel DI, Runge H, Seipel L, Riessen R. Effects of cerivastatin on human arterial smooth muscle cell growth and extracellular matrix expression at varying glucose and low-density lipoprotein levels. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;41:422-33.
4. Martínez-Sales V, Vila V, Réganon E, Alfonso V, Ferrando M. La atorvastatina modula a la trombospodina en células endoteliales umbilicales humanas. *Clin Invest Arterioscler.* 2005;17:277-82.
5. Adams JC. Thrombospondins: multifunctional regulators of cell interactions. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001;17:25-51.
6. Doyen V, Rubio M, Braun D, Nakajima T, Abe J, Saito H, et al. Thrombospondin 1 is an autocrine negative regulator of human dendritic cell activation. *J Exp Med.* 2003;198:1277-83.
7. Narizhneva NV, Razorenova OV, Podrez EA, Chen J, Chandrasekharan UM, DiCorleto PE, et al. Thrombospondin-1 up-regulates expression of cell adhesion molecules and promotes monocyte binding to endothelium. *FASEB J.* 2005;19:1158-60.
8. Ashton AW, Cheng Y, Helisch A, Ware JA. Thromboxane A2 receptor agonists antagonize the proangiogenic effects of fibroblast growth factor-2: role of receptor internalization, thrombospondin-1, and alpha(v)beta3. *Circ Res.* 2004;94:735-42.
9. Ridnour LA, Isenberg JS, Espey MG, Thomas DD, Roberts DD, Wink DA. Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:13147-52.
10. Ferrari do Outeiro-Bernstein MA, Nunes SS, Andrade AC, Alves TR, Legrand C, Morandi V. A recombinant NH(2)-terminal heparin-binding domain of the adhesive glycoprotein, thrombospondin-1, promotes endothelial tube formation and cell survival: a possible role for syndecan-4 proteoglycan. *Matrix Biol.* 2002;21:311-24.
11. Ichii T, Koyama H, Tanaka S, Shioi A, Okuno Y, Otani S, et al. Thrombospondin-1 mediates smooth muscle cell proliferation induced by interaction with human platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1286-92.
12. Chen D, Asahara T, Krasinski K, Witzenbichler B, Yang J, Magner M, et al. Antibody blockade of thrombospondin accelerates reendothelialization and reduces neointima formation in balloon-injured rat carotid artery. *Circulation.* 1999;100:849-54.
13. Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2002;105:3017-24.
14. Weis M, Heeschen C, Glassford AJ, Cooke JP. Statins have biphasic effects on angiogenesis. *Circulation.* 2002;105:739-45.
15. Urbich C, Dernbach E, Zeiher AM, Dimmeler S. Double-edged role of statins in angiogenesis signaling. *Circ Res.* 2002;90:737-44.
16. Martínez-González J, Badimon L. Inhibidores de la HMG-CoA reductasa, angiogenesis y cáncer. *Clin Invest Arterioscler.* 2005;17:31-39.
17. Martínez-González J, Rodríguez C. Antiangiogenesis y estatinas. *Clin Invest Arterioscler.* 2005;17:15-22.
18. Lawler J. Thrombospondin-1 as an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Cell Mol Med.* 2002;6:1-12.
19. Vincent L, Albanese P, Bompais H, Uzan G, Vannier JP, Steg PG, et al. Insights in the molecular mechanisms of the anti-angiogenic effect of an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Thromb Haemost.* 2003;89:530-7.
20. Romano M, Mezzetti A, Marulli C, Ciabattini G, Febo F, Di Ienno S, et al. Fluvastatin reduces soluble P-selectin and ICAM-1 levels in hypercholesterolemic patients: role of nitric oxide. *J Invest Med.* 2000;48:183-9.
21. Stalker TJ, Lefer AM, Scalia R. A new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, exerts anti-inflammatory effects on the microvascular endothelium: the role of mevalonic acid. *Br J Pharmacol.* 2001;133:406-12.
22. Bonnefoy A, Daenens K, Feys HB, De Vos R, Vandervoort P, Vermynen J, et al. Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub)endothelial VWF from cleavage by ADAMTS-13. *Blood.* En prensa 2005.
23. Canfield AE, Boot-Handford RP, Schor AM. Thrombospondin gene expression by endothelial cells in culture is modulated by cell proliferation, cell shape and the substratum. *Biochem J.* 1990;268:225-30.