

Comentarios bibliográficos

Tratamiento de la diabetes y la ateroesclerosis mediante la inhibición de la proteína de unión a ácidos grasos aP2

Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty acid binding protein aP2

Furuhashi M, Tuncman G, Görgün CZ, Makowski L, Atsumi G, Vaillancourt E, Kono K, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, Sulsky R, Robl JA, Parker RA, Hotamisligil GS

Nature. 2007;447:959-65.

La proteína de unión a ácidos grasos adipocitaria, aP2 (FABP4) se expresa en adipocitos y macrófagos, e integra respuestas inflamatorias y metabólicas. Estudios en ratones deficientes en aP2 muestran que esta chaperona de lípidos tiene un papel clave en diversos aspectos del síndrome metabólico, incluyendo la diabetes mellitus tipo 2 y la aterosclerosis. Aquí demostramos que una molécula de pequeño tamaño, oralmente activa, inhibidora de la aP2 es un agente terapéutico eficaz contra la aterosclerosis grave y la diabetes mellitus tipo 2 en modelos de ratón. En líneas celulares de macrófagos y adipocitos que expresan o no aP2, hemos demostrado la especificidad de esta intervención química y sus mecanismos de acción en las vías metabólicas e inflamatorias. Nuestros resultados demuestran que la regulación de la aP2 mediante moléculas inhibidoras de pequeño tamaño es posible y puede conducir a un nuevo tipo de agentes terapéuticos potentes para prevenir y tratar enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus tipo 2 y la aterosclerosis.

COMENTARIO

Las proteínas de unión a ácidos grasos (fatty acid binding proteins, FABP) constituyen una familia de proteínas intracelulares de 14-15 kDa, capaces de unirse con gran afinidad a ácidos grasos, implicadas en el transporte intracelular de éstos hacia enzimas y compartimientos celulares, y en la modulación del metabolismo lipídico intracelular y de la expresión génica. Resulta bien conocido que existe cierto paralelismo entre la biología de los adipocitos y los macrófagos, ya que diversos genes clave de las células adipocitarias se expresan también en macrófagos, donde desempeñan un papel significativo. Éste es el caso de FABP4, también conocida como ALBP (adipocyte lipid binding protein) o aP2, que fue inicialmente descrita en tejido adiposo, pero que se expresa también en macrófagos de ratón y humanos. Estudios en ratones deficientes en aP2, muestran que la ausencia de este gen disminuye la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina asociadas a la obesidad; además, la aP2 contribuye a la mejora del metabolismo lipídico y de la glucosa en ratones obesos^{1,2}.

Por otra parte, en ratones aP2^{-/-}/apoE^{-/-} se observa una importante disminución en el tamaño de las lesiones ateroscleróticas^{3,4}. La aP2 del macrófago tiene una función clave en ese aspecto, ya que en los macrófagos aislados de estos animales, se observa una reducción en la expresión de citocinas proinflamatorias y menor acumulación de colesterol intracelular³. Estudios posteriores en líneas de macrófagos establecidas a partir de ratones aP2^{-/-} demuestran que este efecto puede deberse a que la deficiencia en aP2 estimula la actividad PPAR-γ y el eflujo de colesterol vía LXRx-ABCA1⁵. Según todos estos resultados previos, parece evidente que, mediante sus diferentes acciones en adipocitos y macrófagos, la FABP4 representa un punto de conexión entre diferentes aspectos del síndrome metabólico, y puede constituir una nueva diana terapéutica para su prevención y tratamiento.

En el estudio de Furuhashi et al se estudian por primera vez los efectos de un compuesto (BMS309403) diseñado para inhibir de forma selectiva la función de la aP2. En experimentos *in vitro* en macrófagos, el tratamiento con BMS309403 ejerce efectos antiateroscleróticos y antiinflamatorios debidos específicamente a la inhibición de la aP2, ya que se observan en macrófagos THP-1 y macrófagos deficientes en aP2 en los que se ha reconstituido la expresión de este gen, pero no en macrófagos aP2^{-/-}. Estos efectos se confirman *in vivo*, ya que en el modelo de ratón apoE^{-/-} alimentado con dieta西方, el tratamiento con BMS309403 produce reducciones significativas en el área de las lesiones ateroscleróticas. Pero, además, BMS309403 ejerce efectos beneficiosos en modelos de obesidad y resistencia a la insulina, en los que produce, por una parte, una mejora en la sensibilidad a la insulina y un incremento de la utilización de glucosa en tejidos periféricos, y por otra, una reducción de la inflamación asociada a la obesidad. Finalmente, cabe destacar que uno de los problemas potenciales asociados a la deficiencia de aP2, la sobreexpresión compensatoria de mal1 (FABP5) en tejido adiposo, no se produce en ratones tratados con BMS309403.

En resumen, la inhibición farmacológica de la aP2 en modelos animales resulta útil para el tratamiento de las distintas facetas del síndrome metabólico mediante sus efectos conjuntos sobre adipocitos y macrófagos, células clave en dicho proceso. Es interesante señalar que BMS309403 es una molécula de pequeño tamaño que puede administrarse por vía oral, un aspecto clave para en el desarrollo de un fármaco útil para el tratamiento de enfermedades crónicas. Aunque por el momento no se dispone de mucha información de BMS309403 (estudios de toxicidad aguda y crónica, efectividad en otros modelos animales, etc.), es posible que este compuesto sea el punto de partida para el desarrollo de un nuevo grupo terapéutico en un campo en el cual desde hace muchos años no se registran avances importantes. En la actualidad, el tratamiento farmacológico de los componentes individuales del síndrome metabólico hace necesario recurrir a múltiples fármacos para conseguir un control adecuado de los factores de riesgo cardiovascular. Por ello, aunque siempre es difícil extrapolar los resultados obtenidos en animales de experi-

mentación a la práctica clínica, el diseño de estrategias farmacológicas que puedan modular conjuntamente diversos componentes de esta patología mediante el ataque de una única diana, como es la aP2, resulta de gran interés.

Marta Alegret

Bibliografía

- Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, Ellis R, Papaioannou VE, Spiegelman BM. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science*. 1996;274:1377-9.
- Uysal KT, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology*. 2000;141:3388-96.
- Makowski L, Boord JB, Maeda K, Babaev VR, Uysal KT, Morgan MA, et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat Med*. 2001;7:699-705.
- Boord JB, Maeda K, Makowski L, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein, aP2, alters late atherosclerotic lesion formation in severe hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1686-91.
- Makowski L, Brittingham KC, Reynolds JM, Suttles J, Hotamisligil GS. The fatty acid-binding protein, aP2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. Macrophage expression of aP2 impacts peroxisome proliferator-activated receptor gamma and IkappaB kinase activities. *J Biol Chem*. 2005;280: 12888-95.

El zumo concentrado de una roja ejerce efectos antioxidantes hipolipemiantes y antiinflamatorios en pacientes en hemodiálisis y en sujetos sanos

Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects

Castilla P, Echarri R, Dávalos A, Cerrato F, Ortega H, Teruel JL, Lucas MF, Gómez-Coronado D, Ortúño J, Lasunción MA

Am J Clin Nutr. 2006;84:252-62.

Antecedentes. Los pacientes sometidos a hemodiálisis con frecuencia presentan complicaciones cardiovasculares que se atribuyen, entre otras causas, a la dislipemia, al incremento del estrés oxidativo y a la inflamación.

Objetivo. El objetivo del estudio fue evaluar los efectos de un suplemento dietético con un concentrado de zumo de uva roja (*red grape juice*, RGJ), una fuente de polifenoles, sobre el perfil lipoproteico, capacidad antioxidante, oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y biomarcadores de inflamación.

Diseño. Un total de 26 pacientes sujetos a hemodiálisis y 15 sujetos sanos fueron instruidos para beber 100 ml de RGJ al día durante 14 días. Se tomaron muestras de sangre al inicio, 2 veces durante el suplemento con RGJ y 2 veces durante el período de seguimiento de 6 meses. Como control, se captó de forma aleatorizada a 12 pacientes sujetos a hemodiálisis que no recibieron RGJ. Se determinaron los valores plasmáticos de lípidos, apolipoproteínas, LDL oxidadas y vitaminas antioxidantes. La biodisponibilidad de los polifenoles del RGJ se determinó en sujetos sanos.

Resultados. La concentración plasmática máxima de quercetina se alcanzó 3 h después de la ingesta de RGJ, lo que indica que los polifenoles contenidos en el suplemento se absorben rápidamente. En sujetos sanos y pacientes sometidos a hemodiálisis, el consumo de RGJ aumenta la capacidad antioxidante del plasma sin afectar la concentración de ácido úrico o de ácido ascórbico; reduce la concentración de LDL oxidadas; e incrementa la concentración de α-tocoferol estandarizado respecto al colesterol. El suplemento con RGJ también causa una reducción significativa en las concentraciones de colesterol unido a LDL (cLDL) y apolipoproteína A-I. En otro estudio en pacientes sujetos a hemodiálisis, el suplemento con RGJ durante 3 semanas redujo de forma significativa la proteína quimioatractante de monocitos tipo 1, un biomarcador de inflamación asociado con el riesgo cardiovascular.

Conclusión. El suplemento dietético con RGJ mejorando el perfil lipídico, reduce la concentración plasmática de marcadores de inflamación y de LDL oxidadas, y puede favorecer una reducción del riesgo cardiovascular.

COMENTARIO

Nos encontramos, una vez más, ante un interesante estudio clínico en el que se muestran los efectos beneficiosos para la salud del consumo de un suplemento dietético, en este caso el zumo concentrado de uva roja. En los últimos años, ha crecido el interés sobre los componentes de la dieta que son una fuente importante de polifenoles, caso del zumo de uva y de otras frutas como la granada o la frambuesa. La principal razón de este interés es el reconocimiento de las propiedades antioxidantes de los polifenoles y su posible papel en la prevención de diversas enfermedades asociadas al estrés oxidativo, no sólo la enfermedad cardiovascular sino también el cáncer o las enfermedades neurodegenerativas. En enfermedades multifactoriales de tipo crónico como el síndrome metabólico, la aterosclerosis y la diabetes tipo 2, el interés radica no tanto en el diagnóstico o la curación de la enfermedad establecida, sino más bien en la etapa temprana, en el momento en que un individuo, en principio todavía sano, pasa a convertirse en un individuo con riesgo de presentar la enfermedad. La intervención en la frontera entre la salud y la enfermedad no suele realizarse con fármacos, sino más bien mediante cambios en el estilo de vida, como puede ser la intervención dietética. Estudios como el pre-

sente, que ponen de relieve efectos beneficiosos de un suplemento dietético en personas sanas, pueden ser útiles para diseñar estrategias de intervención sencillas de llevar a la práctica.

Estos efectos, observados tanto en la población sana como en pacientes sometidos a hemodiálisis, son básicamente 3: la mejora en el perfil lipoproteico plasmático, la reducción de la concentración de LDL oxidadas, y la reducción de la MCP-1, una citocina proinflamatoria. Los beneficios parecen ser atribuibles al contenido en polifenoles del suplemento, especialmente en quercetina, que es absorbida rápidamente tras la ingesta del mismo. El mecanismo hipolipemiante, según los autores, podría relacionarse con una menor absorción de colesterol intestinal o con una mayor captación hepática de LDL. Este último aspecto ha sido abordado en otro estudio del mismo grupo de investigadores¹, en el que se demostró que el tratamiento de células hepáticas HepG2 con RGJ incrementa la actividad y expresión del receptor de LDL, aunque la circulación de dichas lipoproteínas por la vía endocítica resulta alterada. En cuanto mecanismo por el que se produce la reducción de las LDL oxidadas, los autores apuntan a una posible reducción del tiempo de residencia de las LDL en el compartimiento vascular. Podría añadirse que la reducción de la MCP-1 puede conducir a una menor acumulación de monocitos y macrófagos en la íntima arterial, y por tanto a una menor oxidación de LDL mediada por dichas células. En este mismo sentido, otros autores consideran que los polifenoles de las frutas pueden proteger las LDL de la oxidación indirectamente mediante su acumulación en los macrófagos arteriales, inhibiendo así la peroxidación lipídica en el macrófago y la capacidad de estas células para modificar oxidativamente las LDL².

Una de las cuestiones principales acerca de la intervención dietética con finalidades preventivas es cómo debe realizarse, mediante suplementos manufacturados o simplemente aumentando la ingesta de un determinado producto alimenticio. En el estudio que nos ocupa, la cantidad de fruta que debería incorporarse a la dieta diaria para conseguir el mismo valor de flavonoides que aporta el zumo concentrado, sería probablemente demasiado elevada. Sin embargo, el procesado industrial afecta también al contenido en polifenoles: la producción de zumo de fruta suele implicar etapas de clarificación o estabilización que se basan en eliminar ciertos tipos de flavonoides. Por el contrario, la maceración facilita la difusión de los polifenoles en el zumo, tal y como sucede en el proceso de vinificación del vino tinto, cuyo contenido en polifenoles es superior al del vino blanco y al del zumo de uva³.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que una ingesta elevada de bebidas azucaradas promueve la obesidad y el desarrollo de síndrome metabólico. En los últimos años, se ha observado un claro incremento en el consumo de fructosa, debido a que ésta es cada vez más utilizada en sustitución de sacarosa en la elaboración de bebidas refrescantes⁴. El consumo de fructosa en forma de bebidas se considera especialmente peligroso, pues se ha demostrado que el proceso de compensación energética (reducción en

el consumo de otros alimentos o bebidas como consecuencia de la ingesta calórica) es menos preciso que en el caso de alimentos sólidos⁵. La mayor parte de los datos se refieren a los refrescos, pero muchas bebidas a base de frutas y de concentrados son igualmente ricas en energía y pueden promover el aumento de peso si se consumen en grandes cantidades.

En conclusión, el estudio de Castilla et al aporta datos muy interesantes sobre los efectos beneficiosos del zumo de uva roja que apuntan a un posible uso de este suplemento dietético en la prevención del riesgo cardiovascular, incluso en la población sana.

Marta Alegret

Bibliografía

- Dávalos A, Fernández-Hernando C, Cerrato F, Martínez-Botas J, Gómez-Coronado D, Gómez-Cordovés C, et al. Red grape juice polyphenols alter cholesterol homeostasis and increase LDL-receptor activity in human cells in vitro. *J Nutr.* 2006;136:1766-73.
- Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitkevič S, et al. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp Clin Res.* 2002;28:49-62.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:727-47.
- Elliott SS, Keim NL, et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:911-22.
- Bray GA, Nielsen SJ. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:537-43.

El aumento de la activación del sistema inmunitario y la inflamación arterial acelera la aterosclerosis en ratones propensos al lupus

Enhanced immune system activation and arterial inflammation accelerates atherosclerosis in lupus-prone mice

Gautier EL, Huby T, Ouzilleau B, Doucet C, Saint-Charles F, Gremy G, Chapman MJ, Lesnik P

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:1625-31.

Objetivo. La aterosclerosis prematura es una característica del lupus eritematoso sistémico, una enfermedad autoinmune prototípica. Los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a esta aterosclerosis acelerada están por determinar.

Método y resultados. La patofisiología de la aterogénesis mediada por lupus se evaluó en un nuevo modelo animal obtenido por trasplante de células de médula ósea de la cepa propensa al lupus *gld* en ratones *Ldl-r^{-/-}*. La aterogénesis inducida por la dieta en ratones *Ldl-r^{-/-}* irradiados trasplantados con células de médula ósea *gld*

resultó en aterosclerosis acelerada (+65%), en comparación con ratones control trasplantados con células de médula ósea de ratones nativos. El aumento de la aterosclerosis se asoció con una mayor activación de linfocitos B y T, y con la inflamación arterial que comprende activación de células endoteliales, reclutamiento de monocitos y acumulación de residuos apoptóticos, macrófagos y células CD4T, pero resultó ser independiente de los valores de lípidos plasmáticos y de la función renal.

Conclusiones. Nuestros datos apoyan la hipótesis de que, a pesar de la ausencia de desarreglos en la homeostasis del colesterol y de disfunción renal en ratones autoinmunes *gld* → *LDLr*^{-/-} el lupus activa el sistema inmunitario y actúa localmente en la vasculatura induciendo inflamación, junto con la acumulación de residuos apoptóticos, macrófagos y células CD4T, acelerando así la progresión de la placa.

COMENTARIO

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una compleja enfermedad autoinmune que puede afectar prácticamente todos los órganos. Aunque se considera una enfermedad de mal pronóstico, la introducción de tratamientos de amplio espectro, como los corticoides o los agentes inmunodepresores, ha aumentado el tiempo de supervivencia de los afectados. Paralelamente al aumento en la supervivencia, se ha observado un incremento en la incidencia de enfermedad cardiovascular en pacientes con LES, que no puede atribuirse totalmente a la mayor prevalencia de factores de riesgo tradicionales como la hipertensión o la dislipidemia. Por tanto, parece ser que existen factores específicos, propios de la enfermedad, que desempeñan un papel importante en el desarrollo de enfermedad cardiovascular en pacientes con LES, y que no están claramente definidos en este momento. En gran parte, esto se debe a la falta de un modelo animal adecuado, ya que los utilizados para estudiar la patogénesis del lupus son resistentes al desarrollo de lesiones ateroscleróticas similares a las desarrolladas en humanos. Por ello, resultan de gran interés estudios como el de Gautier et al, en el que se caracteriza un nuevo modelo animal de lupus y aterosclerosis, y se estudian los mecanismos que conducen al desarrollo de ésta. Existen múltiples modelos murinos de LES, entre los cuales uno de los que más se acerca a la situación clínica en humanos es el ratón hembra de la cepa New Zealand Black/White F₁ (NZBWF1). Estos animales se caracterizan por la presencia de anticuerpos antinucleares y glomerulonefritis de origen inmune, así como hipertensión arterial e impedimento en la relajación dependiente de endotelio¹, indicador de disfunción endotelial. Sin embargo, la presencia de enfermedad renal en este modelo, puede confundir los resultados referidos a la aterogénesis, ya que por sí misma puede contribuir al desarrollo de enfermedad cardiovascular. Otro modelo de lupus es el ratón deficiente en el gen *gld* (generalized lymphoproliferative disease), gen que codifica para el ligando de *Fas* (*FasL*), implicado en las vías de muerte celular por apoptosis; estos animales desarrollan enfermedad autoinmune asociada a un déficit

en la eliminación de células apoptóticas. Al igual que los NZBWF1, los ratones deficientes en el gen *gld*, cuando se cruzan con ratones *apoE*^{-/-} presentan también una clara disfunción renal. En cambio, el modelo que se presenta en el trabajo de Gautier et al se obtiene por trasplante de células de médula ósea de ratones deficientes en el gen *gld* a ratones susceptibles a aterosclerosis (que no expresan el receptor de *LDL*) previamente irradiados, con lo que la deficiencia de *gld* no es generalizada sino circunscrita a las células del sistema inmunitario. Este modelo desarrolla autoinmunidad sistémica, caracterizada por los elevados valores de autoanticuerpos contra materiales nucleares, así como progresión acelerada de aterosclerosis, en comparación con los controles. La ventaja del modelo es que no se desarrolla dislipemia ni enfermedad renal, de manera que se descartan 2 factores que potencialmente pueden confundir el origen de la aterosclerosis en el LES. Los resultados del estudio de Gautier et al muestran que la aterosclerosis acelerada puede deberse en parte a la menor capacidad de eliminar células apoptóticas por parte de los macrófagos que no expresan *FasL*. La eliminación de células apoptóticas por las células fagocíticas conduce a la inhibición de la señalización inflamatoria y a la activación de vías antiinflamatorias². Este proceso es normalmente rápido y eficaz en lesiones ateroscleróticas iniciales; en cambio, si las células apoptóticas no son eliminadas correctamente, se convierten en cuerpos necróticos que estimulan la respuesta inflamatoria, el reclutamiento de monocitos, constituyen una fuente de factor tisular y factores angiogénicos, favorecen la agregación de plaquetas y la inestabilidad de la placa, y reducen la capacidad de reparación del endotelio². Por tanto, los mecanismos proaterogénicos observados en el modelo descrito en este artículo podrían ser atribuibles directa o indirectamente al déficit fagocítico, que se observa también en lesiones ateroscleróticas avanzadas². Resultaría interesante complementar los resultados de Gautier et al con estudios en otros modelos en los que la inducción de la enfermedad autoinmunitaria se produzca por vías distintas de la apoptosis. En este sentido, un reciente artículo³ ilustra los mecanismos proaterogénicos en un modelo similar al anterior (ratones *LDLr*^{-/-} irradiados y trasplantados con médula ósea de ratones control B6 o ratones susceptibles al lupus B6.Sle.1.2.3). En los animales *LDLr*.Sle, el desarrollo de lesiones ateroscleróticas es también mayor que en los controles, y al igual que en el modelo de Gautier et al, este incremento en las lesiones no se correlaciona con factores como dislipemia, hipertensión o enfermedad renal. En este caso, se concluye que el aumento en la aterogénesis y las modificaciones en la composición de la placa son atribuibles directamente a las alteraciones del sistema inmunitario propias de la enfermedad. Sin embargo, la incidencia de enfermedad cardiovascular no se ha reducido con los últimos avances en la terapia inmunodepresora, lo que sugiere que ésta no es suficiente y es necesario abordar el riesgo cardiovascular de forma independiente. Recientemente se han propuesto directrices para el manejo del riesgo cardiovascular en pacientes con lupus⁴, basadas en las modificaciones en el estilo de vida y

el uso de fármacos tradicionales como las estatinas o los inhibidores de la enzima conversiva de la angiotensina, aunque de momento no existen evidencias acerca de su efectividad real. En conclusión, resulta claro que los pacientes con LES presentan un riesgo elevado de enfermedad cardiovascular, que, independientemente del mecanismo implicado, hace que estos pacientes deban considerarse un grupo de riesgo similar a los pacientes con diabetes, y como tal recibir el tratamiento más adecuado.

Marta Alegret

Bibliografía

1. Ryan MJ, McLemore GR Jr. Hypertension and impaired vascular function in a female mouse model of systemic lupus erythematosus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292:R736-42.
2. Tabas I. Consequences and therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2225-64.
3. Stanic AK, Stein CM, Morgan AC, Fazio S, Linton MF, Wakeland EK, et al. Immune dysregulation accelerates atherosclerosis and modulates plaque composition in systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:7018-23.
4. Wajed J, Ahmad Y, Durrington PN, Bruce IN. Prevention of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus—Proposed guidelines for risk factor management. *Rheumatology (Oxford).* 2004; 43:7-12.