

## ¿Existen aún nuevas dianas terapéuticas en la arteriosclerosis? LXR y FXR

J. Martínez-González y L. Badimón

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

---

En los últimos años, gracias en parte a la utilización de las modernas técnicas de análisis diferencial de la expresión génica, se han identificado potenciales dianas terapéuticas para la arteriosclerosis. Algunas de ellas son factores de transcripción que regulan vías metabólicas en el hígado. De este tipo son los receptores nucleares LXR (*liver X receptor*) y FXR (*farnesol X receptor*), aunque no sólo actúan en el hígado, sino que también están presentes en las células vasculares y en los monocitos/macrófagos donde regulan mecanismos clave para la aterogénesis. Estos y otros receptores nucleares que se han identificado recientemente en la pared vascular constituyen una prometedora área de investigación, al tratarse de factores de transcripción implicados en muchos de los procesos asociados a la aterogénesis y porque, al ser activados por ligandos, son dianas ideales para su modulación farmacológica.

### Palabras clave:

Arteriosclerosis. Receptores nucleares. LXR. FXR. Dianas terapéuticas.

---

### ARE THERE STILL NEW THERAPEUTIC TARGETS IN ARTERIOSCLEROSIS? LXR AND FXR

In the last few years, partly due to the use of modern techniques for differential analysis of gene expression, potential therapeutic targets for arteriosclerosis have been identified. Some of these

are transcription factors that regulate metabolic pathways in the liver. Among this type are the nuclear receptors LXR (Liver X receptor) and FXR (Farnesol X receptor), although these nuclear receptors not only act in the liver but are also present in vascular cells and in monocytes/macrophages where they regulate key mechanisms for atherogenesis. These and other nuclear receptors that have recently been identified in the vascular wall constitute a promising field of investigation, as they are involved in many of the processes associated with atherogenesis. Furthermore, because they are activated by ligands, they are ideal targets for its pharmacological modification.

### Key words:

Arteriosclerosis. Nuclear receptors. LXR. FXR. Therapeutic targets.

---

### Introducción

La industria farmacéutica, que desde sus orígenes se ha basado fundamentalmente en la búsqueda de productos naturales y semisintéticos con actividad biológica, en la actualidad centra parte de su interés en la investigación genómica y proteómica. En este sentido, en las últimas décadas se ha anticipado que la genómica revolucionaría el descubrimiento de nuevos fármacos. Sin embargo, los fármacos existentes modulan sólo una pequeña fracción del genoma humano (aproximadamente unos 500 genes) y pocas de las potenciales "nuevas dianas" identificadas han conducido a moléculas de interés clínico. En este contexto, una notable excepción han sido los receptores nucleares, una superfamilia de factores de transcripción que intervienen en múltiples procesos fisiológicos y que son activados por pequeñas moléculas de naturaleza lipófila (ligandos). Receptores nucleares como los

---

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

PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*), que inicialmente se clasificaron como “huérfanos” (ligando desconocido), hasta que se descubrieron ligandos fisiológicos como los ácidos grasos y las prostaglandinas, y farmacológicos como los fibratos y las glitazonas, han sido la base para el desarrollo de fármacos que actualmente se utilizan en el tratamiento de la hipertrigliceridemia y de la diabetes<sup>1</sup>.

El gran impacto económico y social de la arteriosclerosis, denominador común de las enfermedades cardiovasculares como la enfermedad coronaria, vascular periférica, cerebrovascular y de la muerte súbita por causas isquémicas, ha hecho que los investigadores se esfuercen en identificar nuevas dianas que amplíen las posibilidades terapéuticas para combatir esta enfermedad. Son múltiples los procesos celulares y moleculares que potenciados por factores genéticos y otros factores de riesgo contribuyen al desarrollo de la arteriosclerosis<sup>2,3</sup>; en particular, estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales han subrayado el papel desempeñado por los lípidos. La captación de lipoproteínas modificadas por los macrófagos infiltrados en la pared y la formación de células espumosas se considera un proceso clave en el inicio y progresión de la enfermedad. Por este motivo, y porque hasta el momento los principales fármacos que han demostrado eficacia en la prevención primaria y secundaria de la cardiopatía isquémica son los fármacos hipolipemiantes, gran parte del esfuerzo por identificar y definir nuevas dianas terapéuticas se ha centrado en los factores reguladores de la transformación del monocito en célula espumosa y en el transporte reverso del colesterol. En este contexto, recientemente se ha identificado el LXR (*liver X receptor*) como un receptor nuclear clave en la respuesta celular a la captación lipídica y en el transporte reverso de colesterol, y el FXR (*farnesol X receptor*) como el principal factor de transcripción que regula el metabolismo de los ácidos biliares y que también participa en el transporte reverso del colesterol, lo que ha aumentado el interés en estos receptores como posibles dianas terapéuticas para la arteriosclerosis<sup>4-6</sup>.

A continuación, se analiza las bases celulares y moleculares por las que LXR y FXR se consideran potenciales dianas terapéuticas para la arteriosclerosis, y en un contexto más amplio se presentan otros genes recientemente vinculados al área cardiovascular que son objeto de estudio por su participación en procesos relacionados con la transformación fenotípica de las células musculares lisas vasculares y la activación de los monocitos/macrófagos.

## Receptores nucleares “metabólicos”: LXR y FXR

La superfamilia de los receptores nucleares engloba un gran número de factores de transcripción, normalmente activados por ligandos, que regulan complejos programas genéticos y juegan un papel crítico, tanto en el desarrollo como en la fisiología de los organismos adultos. En el genoma humano se han encontrado 48 genes que pertenecen a esta superfamilia de factores de transcripción<sup>7</sup>. Los receptores nucleares permiten a las células adaptarse a estímulos fisiopatológicos. La organización típica de los receptores nucleares consiste en una región variable aminoterminal (N-terminal) en la que se sitúa el dominio de transactivación AF-1; un dominio central de unión a ADN (DBD, *DNA binding domain*) y una región C-terminal donde normalmente se localiza el dominio de unión a ligando (LBD, *ligand binding domain*)<sup>8</sup>. En general, estos receptores responden a pequeñas moléculas lipofílicas (hormonas, intermediarios metabólicos, fármacos o sustancias medioambientales) que se unen a su dominio de unión a ligando. Una vez activados, los receptores se translocan al núcleo y promueven cambios en la expresión génica.

Los receptores LXR y FXR pertenecen a un subgrupo de receptores nucleares considerados “receptores metabólicos”, entre los que también se encuentran los PPAR, PXR (*pregnane X receptor*), LRH-1 (*liver receptor homolog-1*) y SHP (*small heterodimer partner*)<sup>9</sup>. Los ligandos de estos receptores suelen ser compuestos que se encuentran en la dieta, intermediarios o productos finales de vías metabólicas. A diferencia de los ligandos del resto de los receptores nucleares, que están presentes en bajas concentraciones (rango nmolar), los ligandos de los receptores metabólicos están presentes en elevadas concentraciones (rango micromolar). Estos receptores en su conjunto controlan el metabolismo, ya que actúan como sensores metabólicos que permiten al organismo adaptarse a cambios en el medio ambiente a través de la inducción de la expresión de determinados genes y la activación de ciertas vías metabólicas<sup>9</sup>. El estilo de vida occidental, que se caracteriza por la ingesta de dietas ricas en grasa y con elevado contenido calórico, y la exposición a fármacos y xenobióticos nos expone a concentraciones crónicamente elevadas de los ligandos de estos receptores metabólicos; como consecuencia de ello, se produce una alteración de las vías de señalización en la que participan que contribuye a la fisiopatología de enfermedades como la hiperlipemia, la resistencia a la insulina, la obesidad, la diabetes tipo 2 y la arteriosclerosis.

**Tabla 1. Genes regulados por LXR**

Gen/proteína	Función	Referencias
ABC-A1, G1, G5 y G8	Transportadores de lípidos a través de membranas celulares (TRC)	11-13
CETP	Transferencia de ésteres de colesterol entre HDL y VLDL/LDL	14
PLTP	Transferencia de fosfolípidos entre VLDL/LDL y HDL	15
FAS	Enzima reguladora de la síntesis de ácidos grasos (lipogénesis)	16
SREBP-1c	Factor de transcripción que regula la síntesis de ácidos grasos	17, 18
LPL <sup>a</sup>	Hidrólisis de triglicéridos	19
CYP7A1 <sup>b</sup>	Enzima reguladora de la síntesis de ácidos biliares	20
Apo E, apo C-I, -II y IV <sup>c</sup>	Componente lipoproteínas	21, 22
Factor tisular	Activación cascada de la coagulación	23
VEGF	Factor proangiogénico	24
LXRa		25

ABC: ATP binding cassette; CETP: cholesterol ester transfer protein; CYP7A1: colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilasa; FAS: fatty acid synthase; LPL: lipoproteína lipasa; PLTP: phospholipid transfer protein; TRC: transporte reverso de colesterol.

<sup>a</sup>Específica del tejido: inducen expresión de LPL en músculo y macrófagos pero no en tejido adiposo.

<sup>b</sup>Sólo en ciertas especies (roedores) no en humanos.

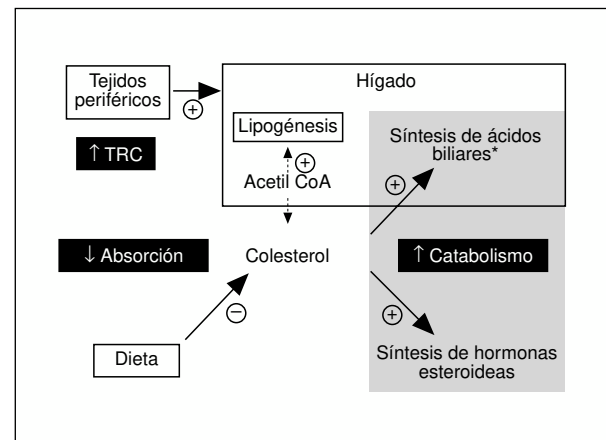
<sup>c</sup>Específica del tejido: inducen apo E en macrófagos y adipocitos.

### LXR: sensor de esteroides

Los receptores LXR son factores de transcripción activados por ligandos que pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares. Se han descrito 2, el LXR $\alpha$  (RLD-1 o NR1H3) y el LXR $\beta$  (NER, UR, OR-1 o NR1H2). LXR $\alpha$  se expresa preferentemente en el hígado y en otros tejidos asociados con el metabolismo lipídico, como tejido adiposo, intestino, glándulas adrenales y macrófagos<sup>10</sup>. LXR $\beta$  se expresa de manera más ubicua y su función es menos conocida. Ambas isoformas forman heterodímeros con RXR (*retinoid X receptor*) y se unen a los elementos de respuesta DR4 presentes en los promotores de sus genes diana (tabla 1)<sup>11-25</sup>. Inicialmente, se identificaron como receptores huérfanos, es decir, de ligando desconocido y posteriormente se descubrió que son activados por varios oxisteroides naturales: 24(S) hidroxicolesterol (cerebro), 22(R)-hidroxicolesterol (glándulas adrenales), 27-hidroxicolesterol (macrófagos) y 24(S),25-epoxicolesterol. Este último compuesto, que se forma a partir del escualeno por una derivación de la vía de síntesis de colesterol y se acumula en el hígado después de la ingesta de colesterol, es el ligando natural más eficaz que se conoce. Además se activan por otros ligandos sintetizados en las gónadas y la placenta y por el mevalonato, precursor de colesterol y de otros compuestos isoprenoides.

Los receptores LXR actúan como sensores del colesterol y regulan la expresión de un conjunto de genes que controlan la homeostasis del colesterol, pues regulan su absorción en el intestino, y su salida de las células para su catabolismo y excreción<sup>6,26</sup> (fig. 1). LXR regula la expresión de genes que codifican para varios transportadores de esteroides, como ABCA1, ABCG1, ABCG4, ABCG5 y ABCG8<sup>11-13</sup>.

ABCA1, es una proteína monomérica, presente en la membrana celular de células hepáticas, intestinales y macrófagos entre otras, que actúa como transportador de fosfolípidos y colesterol en estos órganos y que se considera la proteína limitante en el transporte reverso del colesterol<sup>27</sup>. LXR se regula a sí mismo<sup>25</sup>, particularmente en macrófagos humanos, lo que puede contribuir a amplificar su efecto en el transporte reverso. LXR controla la expresión de 2 importantes enzimas que participan



**Figura 1.** Control de la homeostasis del colesterol por LXR. Las concentraciones plasmáticas de colesterol dependen de la absorción intestinal a partir de la dieta, de la síntesis *de novo*, fundamentalmente en el hígado a partir de acetil CoA, y de su catabolismo a hormonas esteroideas y ácidos biliares (hígado). El receptor LXR inhibe la absorción intestinal de colesterol y estimula la síntesis hepática de ácidos biliares. Además, incrementa la lipogénesis y a nivel periférico induce el transporte reverso de colesterol. Los signos positivos indican inducción y los negativos inhibición. TRC: transporte reverso de colesterol. \*La regulación de la síntesis de ácidos biliares no se produce en todas las especies animales.

en el remodelado de las lipoproteínas: CETP (*cholesterol ester transfer protein*) y PLTP (*phospholipid transfer protein*). CETP es la enzima que media el intercambio de lípidos neutros (ésteres de colesterol y triglicéridos) entre lipoproteínas antiaterogénicas (HDL) y proaterogénicas (VLDL y LDL) para su retorno al hígado. PLTP es clave en el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), podría participar también en el transporte reverso de colesterol y regula la secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) por el hígado. Finalmente, LXR también regula genes implicados en la síntesis de ácidos grasos como la enzima FAS (*fatty acid synthase*)<sup>16</sup>.

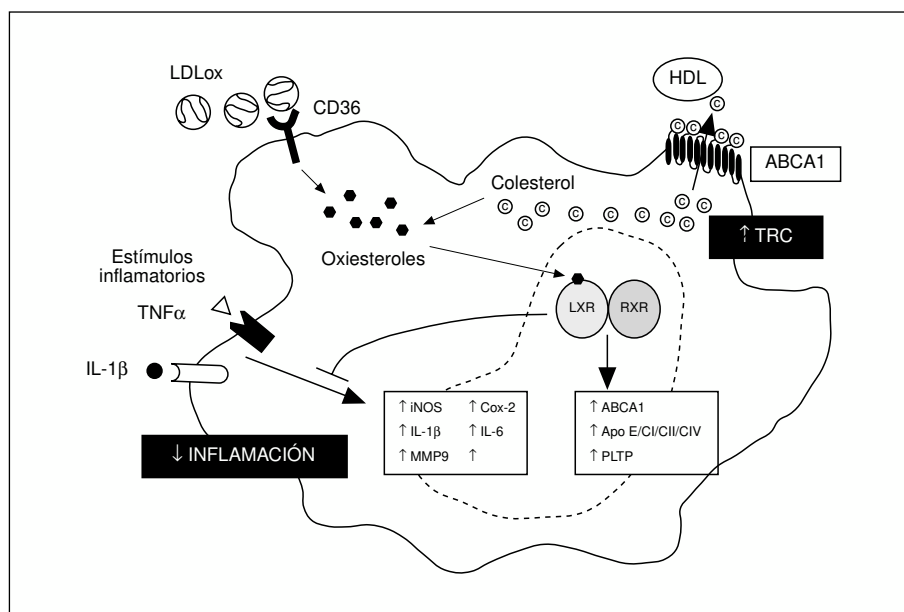
De lo expuesto se entiende por qué LXR se considera una potencial diana terapéutica para enfermedades como la arteriosclerosis y la diabetes, y por qué en los últimos años se han desarrollado varios agonistas sintéticos no esteroideos de LXR<sup>28</sup>. Estos compuestos han ayudado a comprender mejor la regulación de rutas metabólicas complejas, por ejemplo, a descubrir que LXR participa en la inducción de la lipogénesis dependiente de SREBP-1<sup>17,18</sup>. Además, dado que LXR también regula PLTP y afecta a la secreción hepática de VLDL, los agonistas de LXR incrementan los triglicéridos cuando se utilizan para reducir la arteriosclerosis en modelos animales. Otra dificultad con la que se han encontrado estos compuestos es que LXR ni se expresa ni regula la expresión génica de igual modo en diferentes especies de mamíferos, lo que no permite la extrapolación a humanos de los resultados obtenidos en ciertos modelos animales. Así, por ejemplo, los ratones carecen de CETP, un importante gen diana de LXR en humanos; además, en ratones, pero no en humanos, LXR induce la expresión de la enzima colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP7A1), principal regulador de la síntesis de ácidos biliares<sup>20</sup>. Por otra parte, en hámster o monos los agonistas de LXR no aumentan las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL), como sucede en ratones, y lo que es más importante, en ambas especies modulan CETP y producen el efecto indeseado de aumentar las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL)<sup>29</sup>. Por tanto, es necesario que los estudios preclínicos con compuestos que modulan LXR se realicen en especies cuya respuesta a este receptor sea lo más parecida al ser humano. En un futuro próximo, sería muy interesante que en estas especies puedan reproducirse los resultados de estudios como el publicado recientemente por Naik et al<sup>30</sup>, que constituye la primera demostración *in vivo* de que un

agonista parcial de LXR (GW3965) incrementa el transporte reverso de colesterol y la excreción de colesterol específicamente de macrófagos en ratones normales, y ratones deficientes en el receptor de LDL y ratones "humanizados" que sobreexpresan apolipoproteína (apo) B y CETP.

Además del potencial farmacológico del LXR que deriva de su actividad como receptor metabólico hepático, LXR también se expresa y juega un papel en la fisiología de las células que participan directamente en la aterogénesis. En macrófagos, regula la expresión de genes involucrados en el transporte reverso de colesterol<sup>11-13</sup> y de los genes que codifican para las apo E, apo C-I, apo C-II y apo C-IV<sup>21,22</sup> (fig. 2)<sup>31</sup>. La expresión de apo E en macrófagos es beneficiosa, ya que ratones modificados genéticamente que sólo expresan apo E en estas células no desarrollan arteriosclerosis. Además, los agonistas de LXR actúan como antiinflamatorios, reprimen la respuesta inflamatoria inducida por citocinas<sup>18</sup>; inhiben la expresión de osteopontina<sup>32</sup>, citocina proinflamatoria y molécula de adhesión implicada en la quimiotaxis de monocitos; también inhiben la expresión de factor tisular (TF), lo que se traduce en una menor expresión de TF en lesiones aórticas en el modelo de arteriosclerosis en ratón<sup>23</sup>, y regula la transcripción de VEGF<sup>24</sup>. En las células musculares lisas vasculares, los agonistas de LXR suprimen la proliferación de éstas e inhiben la formación de neoíntima en arterias carótidas de rata en las que se indujo lesión con balón<sup>33</sup>. Se observó que el efecto antiproliferativo de los agonistas de LXR se asocia a una reducción de la fosforilación de la proteína de retinoblastoma (Rb), que es la clave para que el ciclo celular progrese de fase G1 a fase S. También inhiben la degradación inducida por mitógenos de p27(Kip1) y atenúan la expresión de la ciclina D y A. En las células endoteliales, además de regular genes relacionados con el metabolismo lipídico, como ABCA1, también regulan la expresión de moléculas de adhesión, de modo que agonistas de LXR reducen, por ejemplo, la expresión de P-selecina y la adhesión de leucocitos<sup>34</sup>.

La expresión y la actividad de los receptores LXR son específicos del tejido, ya que dependen de varios factores, como de sus niveles de expresión en el tejido, de la presencia de correceptores y coactivadores y de la disponibilidad de RXR por el que "compite" con otros receptores para formar heterodímeros. De hecho, es probable que al menos parte de las dificultades con las que se están encontrando los agonistas de LXR para su validación como potenciales fármacos de utilidad clínica

**Figura 2.** Regulación de expresión génica por LXR en macrófagos. Los genes regulados por LXR en los macrófagos participan en la salida de colesterol de estas células y en la represión de la respuesta inflamatoria inducida por citoquinas; de hecho, se ha propuesto que la regulación de estos genes se produce de forma recíproca<sup>31</sup>. También aumentan las concentraciones de PLTP (*phospholipid transfer protein*) que interviene en el remodelado de las HDL. ABCA1: *ATP-binding cassette transporter A1*; iNOS: óxido nítrico sintasa inducible; Cox-2: ciclooxigenasa-2; IL-1 $\beta$ : interleucina-1 beta; IL-6: interleucina-6; LDLox: lipoproteínas de baja densidad oxidadas; MMP9: metaloproteasa-9 de matriz; TRC: transporte reverso de colesterol; TNF $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa.



puedan paliarse cuando se comprenda mejor un concepto emergente: la activación parcial selectiva de los receptores nucleares. Se han detectado diferencias cualitativas y cuantitativas importantes en la capacidad de los agonistas “puros” y agonistas “parciales” de activar LXR y, por tanto, de regular la expresión génica que de él depende<sup>35</sup>. Mientras que un ligando que actúa como agonista puro induce una conformación en el receptor que es incompatible (excluyente) con la unión del represor, los agonistas parciales inducen un estado que permite la interacción simultánea de coactivadores y correpresores. Esta unión “competitiva” entre coactivadores y correpresores puede explicar la especificidad de tejido de los agonistas parciales, lo que expandiría las posibilidades del diseño racional de fármacos basados en LXR.

### FXR: sensor de ácidos biliares

El receptor FXR de mamíferos se identificó a mediados de los años noventa como el homólogo del receptor de ecdisona de *Drosophila*<sup>36</sup>. En el ser humano existen 4 isoformas  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  y  $\beta 2$ , que corresponden a 4 variantes generadas por ajuste diferencial, de las que actualmente se desconoce su regulación específica y sus funciones particulares, si es que éstas realmente existen. FXR se expresa fundamentalmente en hígado e intestino, y también en riñón y corteza adrenal. Igual que LXR, forma heterodímeros con RXR y se une a elementos de respuesta IR-1. Los primeros “ligandos” de

FXR identificados fueron isoprenoides, como el farnesol, el ácido retinoico y retinoides sintéticos. Sin embargo, aunque estos compuestos a elevadas concentraciones pueden activar moderadamente a FXR no se unen a él directamente, posteriormente se descubrió que sus ligandos son los ácidos biliares<sup>37,38</sup>. El ácido cólico es el activador más potente de FXR, y en general la capacidad de activación de los ácidos biliares, sobre todo de las formas hidrofílicas conjugadas a glicina y taurina, depende de la presencia de un transportador de membrana. A pesar de que las concentraciones circulantes de ácidos biliares, normalmente unidos a albúmina, son relativamente elevadas, las bajas concentraciones de expresión de FXR en los tejidos plantean la cuestión de si existen ligandos endógenos alternativos. De hecho, en ensayos con genes reporteros se ha observado que FXR parece un receptor más promiscuo de lo que se pensaba en un principio, así, por ejemplo, la androsterona es un eficaz inductor en células HepG2<sup>39</sup>.

Como ya se ha comentado anteriormente, la principal función de FXR es el metabolismo de los ácidos biliares, por ello también se le conoce por BAR (*bile acid receptor*). A través de FXR los ácidos biliares regulan su propia síntesis a partir de colesterol, ya que FXR inhibe la síntesis de ácidos biliares y su captación por los hepatocitos, estimula su secreción y protege a los hepatocitos de la toxicidad de estos compuestos (fig. 3). Se ha propuesto que FXR es una nueva diana terapéutica para la ar-

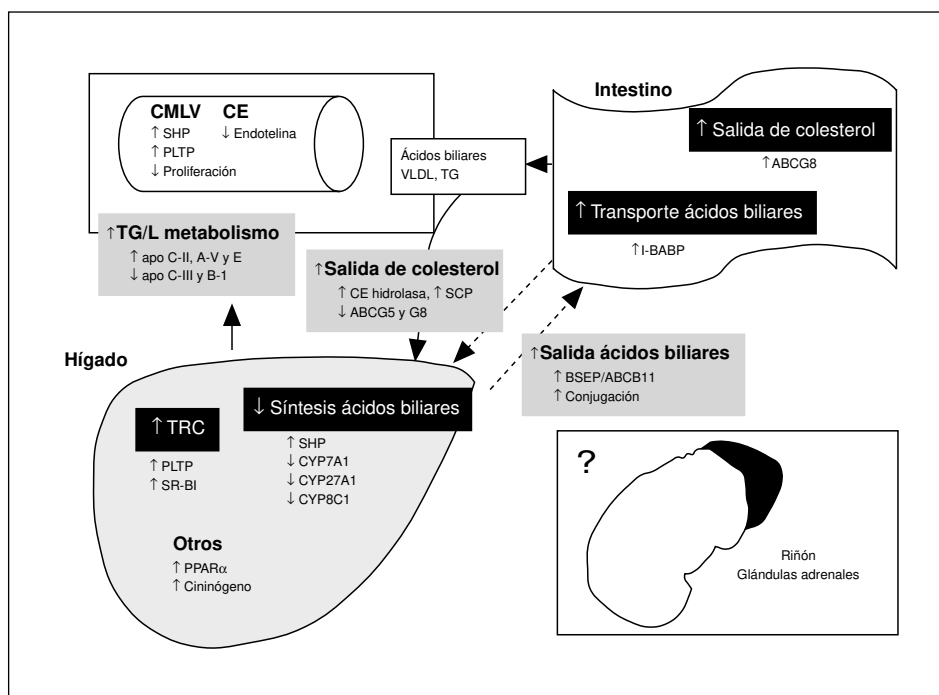


Figura 3. Genes diana y funciones reguladas por FXR en distintos órganos. FXR regula el metabolismo y la síntesis de los ácidos biliares a través de la circulación enterohepática, pero también se expresa y regula otras funciones en la pared vascular y, probablemente, en el riñón y en las glándulas adrenales. ABCG5: ATP-binding cassette transporter G5; BSEP: bile salt export pump; CE hidrolasa: colesterol éster hidrolasa; CMLV: célula muscular lisa; I-BABP: intestinal bile acid binding protein; PLTP: phospholipid transfer protein; PPARα: peroxisome proliferator activated receptor α; SCP: sterol carrier protein; SHP: small heterodimer partner; SR-BI: scavenger receptor B-I; TG: triglicéridos; TRC: transporte reverso de colesterol.

teriosclerosis, pues afecta al metabolismo lipídico en el hígado y en el intestino, y reduce las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos<sup>4</sup>. La posibilidad de reducir las concentraciones de colesterol plasmático a través de la regulación de la síntesis de ácidos biliares no es algo nuevo; de hecho, es la base del tratamiento de la hipercolesterolemia que utiliza las resinas como secuestradores de ácidos biliares para interrumpir la circulación enterohepática de estos compuestos y forzar el catabolismo y excreción del colesterol.

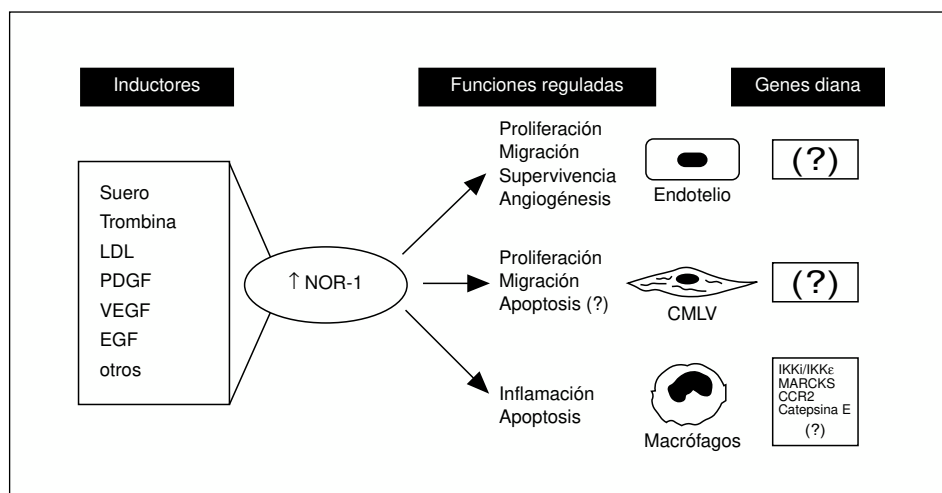
En modelos animales deficientes en FXR se ha demostrado que al anular su función disminuye la supervivencia, se producen trastornos graves del metabolismo lipídico y se acentúa enormemente el desarrollo de lesiones ateroscleróticas<sup>40</sup>. Por otra parte, se ha demostrado que participa en la represión del gen de la paraoxonasa y en la reducción de las concentraciones de cHDL inducida por los ácidos biliares<sup>41,42</sup>. Además, datos recientes indican que FXR se expresa también en los vasos y su activación con ligandos, que conlleva la inducción de los genes que regula específicamente como SHP (*small heterodimer partner*), se asocia con un aumento de la apoptosis de las células musculares lisas (CMLV)<sup>43</sup> y la inhibición de la expresión de endotelina-1 en las células endoteliales a través de la modulación negativa de la vía de señalización que conduce a la activación de AP-1<sup>44</sup>.

Por tanto, FXR podría ser una nueva diana terapéutica al estar directamente implicado en procesos celulares y moleculares que participan en la fisiopatología de la arteriosclerosis. Actualmente existen ligandos sintéticos que son potentes activadores de FXR, entre ellos GW4064, 6ECDCA, fexaramina y varios ésteres del ácido 1,1-bifosfónico como SR-45023A (Apomine<sup>TM</sup>), también existe un inhibidor específico (guggulsterona). Se cree que estos compuestos exhiben diferencias importantes en la capacidad de inducir los cambios conformacionales en FXR que desencadenan el reclutamiento de coactivadores y, en consecuencia, podrían presentar diferencias también significativas en la regulación de la expresión de sus genes diana. De hecho, los resultados de análisis de *microarrays* de ADNc sugieren que distintos ligandos inducen respuestas distintas<sup>45</sup>, por lo que sus potenciales propiedades farmacológicas también podrían diferir significativamente. Actualmente no existen datos que avalen un potencial uso de estos compuestos en arteriosclerosis.

Además de FXR, otros receptores nucleares como PXR y VDR (receptor de la vitamina D), también pueden regular el metabolismo de los ácidos biliares en el hígado y en el intestino<sup>5</sup>. Las funciones fisiológicas de estos receptores en el metabolismo de los ácidos biliares se desconocen; además, el hecho de que también formen heterodímeros con



**Figura 4.** Nuevos receptores nucleares implicados en la arteriosclerosis: NOR-1. NOR-1 (*neuron-derived orphan receptor-1*) es inducido en células endoteliales, células musculares lisas (CMLV) y monocitos/macrófagos por diferentes estímulos (factores de crecimiento, trombina). En las células vasculares NOR-1 se ha implicado en proliferación, migración y en procesos de supervivencia/apoptosis celular; en líneas celulares del linaje monocítico parece estar implicado en la respuesta inflamatoria y en apoptosis. Se desconoce la naturaleza de los genes que regula en las células vasculares. Resultados de *microarray* lo han vinculado a la regulación de genes que intervienen en inflamación (IKK $\alpha$ /IKK $\beta$ , MARCKS, CCR2), ciclo celular y apoptosis (catepsina E) en monocitos. PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular; MARCKS: *myristoylated alanine-rich C kinase substrate*; CCR2: *chemokine receptor 2*.



RXR y respondan a más de un ligando, por ejemplo, VDR a la 1 $\alpha$ ,25-dihidroxitamina D3 y al ácido litocólico, plantea cuestiones todavía no resueltas relacionadas con los mecanismos específicos a través de los que controlan la inducción selectiva de determinados grupos de genes.

### Otros receptores nucleares involucrados en la arteriosclerosis

La lista de receptores nucleares potencialmente involucrados en la enfermedad arteriosclerótica se está incrementando. En los últimos años son varios los receptores que han sido involucrados en los mecanismos responsables de la activación de las células vasculares, el inicio y la progresión de la arteriosclerosis. Recientemente, tanto RXR como RAR (*retinoic acid receptor*) y ROR (*retinoid-related orphan receptor*) se han relacionado con la aterogénesis<sup>46-48</sup>. En particular, la activación de RXR parece jugar un papel clave en la modulación del fenotipo y proliferación de las células musculares lisas<sup>48</sup>, en la recaptación de colesterol de células en cultivo<sup>11</sup> y en la prevención del desarrollo de arteriosclerosis en animales predispuestos genéticamente<sup>49</sup>. Como ya se ha mencionado anteriormente, RXR es la "pareja" que comparten otros receptores nucleares que participan en el metabolismo del colesterol y que actúan en la pared vascular, como LXR, FXR y los PPAR<sup>50</sup> o Nur77, un miembro de la familia NR4A de receptores nucleares huérfanos identificado recientemente en la pared vascular<sup>8</sup>. Muchos de los heterodímeros

en los que participa RXR son "permissivos", es decir, que LXR/RXR, por ejemplo, puede ser activado por ligandos de LXR o de RXR indistintamente. Los moduladores de RXR se han propuesto como una alternativa para el tratamiento de la diabetes. En contra de las tiazolidindionas que producen aumento de peso, los agonistas de RXR reducen la ingesta y el peso corporal en animales de experimentación. Desafortunadamente, los agonistas de RXR también suprimen funciones reguladas por las hormonas tiroideas y generalmente provocan hipertrigliceridemia. Sin embargo, se han identificado moduladores selectivos de ciertos heterodímeros de RXR que en roedores conservan los efectos beneficiosos y producen menos efectos secundarios. Estos moduladores se unen específicamente a RXR y actúan como agonistas homodiméricos parciales, de modo que sólo activan los heterodímeros RXR:PPAR $\alpha$  y RXR:PPAR $\gamma$ , pero no otros como RXR:LXR $\alpha$  o RXR:FXR $\alpha$ <sup>51,52</sup>. Aunque estas moléculas están todavía lejos de reunir las condiciones idóneas para su uso en clínica, constituyen una estrategia prometedora para el desarrollo de nuevos tratamientos para la diabetes tipo 2 y la arteriosclerosis.

Recientemente, nuestro grupo ha demostrado que NOR-1 (*neuron-derived orphan receptor-1*) y Nur77, también conocido como NGFI-B (*nerve growth factor induced clone B*), receptores nucleares huérfanos pertenecientes a la familia NR4A identificados primeramente en neuronas, son genes de respuesta temprana en células vasculares y

están sobreexpresados en lesiones coronarias de pacientes con cardiopatía isquémica<sup>8,53</sup>. NOR-1 es inducido en CMLV y células endoteliales a través de una compleja red de mecanismos de transducción de señal desencadenados por diferentes estímulos proaterogénicos como factores de crecimiento (PDGF, VEGF, EGF), LDL y trombina<sup>8,53-56</sup> (fig. 4). Su bloqueo con oligonucleótidos antisentido específicos previene la migración y proliferación de las células vasculares, y su inducción temprana después de infringir daño intravascular con balón en la pared del modelo porcino de angioplastia indica que puede estar implicado en la formación de la neointima. Hasta el momento, se desconoce qué funciones celulares específicas y qué genes diana regula en las células vasculares. NOR-1 también se expresa en monocitos/macrófagos<sup>57</sup>, y resultados recientes publicados por el grupo de Tontonoz implican fundamentalmente a Nur77, y de forma secundaria a NOR-1, en la respuesta inflamatoria de los monocitos<sup>58,59</sup>. Nur77, el miembro más estudiado de la familia NGFI-B, está implicado en la apoptosis de linfocitos T<sup>60</sup> y macrófagos<sup>61</sup>, función en la que también NOR-1 parece ejercer un papel secundario<sup>62</sup>. Aunque se discute si estos receptores son o no activados por ligandos, los resultados de los estudios de estructura de Nur1<sup>63</sup>, otro de los miembros de la familia NR4A, y de DHR38, un ortólogo de NOR-1 en *Drosophila*<sup>64</sup>, indican que estos receptores carecen de sitio de unión del ligando, aunque la secuencia de aminoácidos del LBD esté muy conservada. Para comprender la participación de estos factores de transcripción en la arteriosclerosis será necesario descubrir los mecanismos específicos en los que participan en la pared vascular y los genes que regulan, que en sí mismos pueden ser “nuevas dianas” para modular mecanismos más específicos asociados a la fisiopatología de la arteriosclerosis.

### Perspectivas futuras

Aunque es mucho lo que se ha avanzado en los últimos años en la identificación de genes relevantes en la arteriosclerosis, el conocimiento actual acerca de los mecanismos moleculares que regulan la respuesta de las células vasculares en la aterogénesis es todavía incipiente, no sólo porque seguramente no se dispone de todas las piezas del “puzzle”, sino porque aún conociendo su identidad se sabe poco acerca de su participación en la enfermedad. En el inicio y progresión de esta patología intervienen múltiples procesos celulares y moleculares, desde la disfunción endotelial, la infiltración y captación celular de lípidos, la inflamación, la

migración y proliferación celular, la apoptosis y la alteración de la matriz extracelular. Por tanto, son muchas las vías sobre las que teóricamente se puede incidir farmacológicamente. Actualmente, las estrategias terapéuticas más exitosas se basan en reducir las concentraciones circulantes de lípidos, lo que implica la utilización de fármacos que actúan principalmente en el hígado. Sin embargo, la arteriosclerosis es una enfermedad más compleja que un “simple” trastorno metabólico y aunque los resultados de algunos estudios animan a reducir las concentraciones de colesterol según extrapolaciones que parecen no tener límite, se debe tener presente que la propia complejidad de la enfermedad indica que existen otros tratamientos “mas allá del colesterol” que esperan ser descubiertos. En este sentido, la investigación acerca de los receptores nucleares es un área emergente muy prometedora que puede aportar novedades importantes en los próximos años. La implicación de estos receptores en los procesos celulares y moleculares que subyacen a la aterogénesis y la necesidad de activación mediada por ligandos, una característica connatural de la mayoría de ellos, los convierten en candidatos idóneos sobre los que actuar farmacológicamente. Sin embargo, actualmente sólo se conocen los ligandos de aproximadamente la mitad de los receptores nucleares conocidos. Es tentador anticipar que los ligandos de los “nuevos” receptores nucleares involucrados en la arteriosclerosis podrían convertirse en los fármacos del futuro; por tanto, su identificación es un gran reto para la investigación básica y clínica. En la identificación de nuevas dianas y del modo como actuar sobre ellas pueden ser muy útiles las nuevas plataformas tecnológicas que permiten analizar el genoma, el transcriptoma, el proteoma, el metaboloma y el potencial farmacológico de miles de nuevas moléculas de forma sistemática y asequible para muchos laboratorios. Por tanto, existen nuevas dianas terapéuticas para la arteriosclerosis y encontrarlas puede ser sólo cuestión de tiempo y dinero.

### Bibliografía

1. Mukherjee R. PPARs: versatile targets for future therapy for obesity, diabetes and cardiovascular diseases. *Drug News Perspect.* 2002;15:261-7.
2. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J.* 1999;138:S419-20.
3. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature.* 2000;407:233-41.
4. Bishop-Bailey D. FXR as a novel therapeutic target for vascular disease. *Drug News Perspect.* 2004;17:499-504.
5. Makishima M. Nuclear receptors as targets for drug development: regulation of cholesterol and bile acid metabolism by nuclear receptors. *J Pharmacol Sci.* 2005;97:177-83.



6. Tontonoz P, Mangelsdorf DJ. Liver X receptor signaling pathways in cardiovascular disease. *Mol Endocrinol*. 2003;17:985-93.
7. Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science*. 2001;294:1866-70.
8. Martínez-González J, Badimón L. The NR4A subfamily of nuclear receptors: new early genes regulated by growth factors in vascular cells. *Cardiovasc Res*. 2005;65:609-18.
9. Francis GA, Fayard E, Picard F, Auwerx J. Nuclear receptors and the control of metabolism. *Annu Rev Physiol*. 2003;65:261-311.
10. Lu TT, Repa JJ, Mangelsdorf DJ. Orphan nuclear receptors as eLXRαs and FiXRs of sterol metabolism. *J Biol Chem*. 2001;276:37735-8.
11. Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro JA, Medina J, Li L, Lustig K, et al. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*. 2000;289:1524-9.
12. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science*. 2000;290:1771-5.
13. Venkateswaran A, Repa JJ, Lobaccaro JM, Bronson A, Mangelsdorf DJ, Edwards PA. Human white/murine ABC8 mRNA levels are highly induced in lipid-loaded macrophages. A transcriptional role for specific oxysterols. *J Biol Chem*. 2000;275:14700-7.
14. Luo Y, Tall AR. Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest*. 2000;105:513-20.
15. Cao G, Beyer TP, Yang XP, Schmidt RJ, Zhang Y, Bensch WR, et al. Phospholipid transfer protein is regulated by liver X receptors in vivo. *J Biol Chem*. 2002;277:39561-5.
16. Joseph SB, Laffitte BA, Patel PH, Watson MA, Matsukuma KE, Walczak R, et al. Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J Biol Chem*. 2002;277:11019-25.
17. Schultz JR, Tu H, Luk A, Repa JJ, Medina JC, Li L, et al. Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev*. 2000;14:2831-8.
18. Repa JJ, Liang G, Ou J, Bashmakov Y, Lobaccaro JM, Shimomura I, et al. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRα and LXRβ. *Genes Dev*. 2000;14:2819-30.
19. Zhang Y, Repa JJ, Gauthier K, Mangelsdorf DJ. Regulation of lipoprotein lipase by the oxysterol receptors, LXRα and LXRβ. *J Biol Chem*. 2001;276:43018-24.
20. Chiang JY, Kimmel R, Stroup D. Regulation of cholesterol 7α-hydroxylase gene (CYP7A1) transcription by the liver orphan receptor (LXRα). *Gene*. 2001;262:257-65.
21. Laffitte BA, Repa JJ, Joseph SB, Wilpitz DC, Kast HR, Mangelsdorf DJ, et al. LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:507-12.
22. Mak PA, Laffitte BA, Desrumaux C, Joseph SB, Curtiss LK, Mangelsdorf DJ, et al. Regulated expression of the apolipoprotein E/C-I/C-IV/C-II gene cluster in murine and human macrophages. A critical role for nuclear liver X receptors alpha and beta. *J Biol Chem*. 2002;277:31900-8.
23. Terasaka N, Hiroshima A, Ariga A, Honzumi S, Koieyama T, Inaba T, et al. Liver X receptor agonists inhibit tissue factor expression in macrophages. *FEBS J*. 2005;272:1546-56.
24. Walczak R, Joseph SB, Laffitte BA, Castrillo A, Pei L, Tontonoz P. Transcription of the vascular endothelial growth factor gene in macrophages is regulated by liver X receptors. *J Biol Chem*. 2004;279:9905-11.
25. Whitney KD, Watson MA, Goodwin B, Galardi CM, Maglich JM, Wilson JG, et al. Liver X receptor (LXR) regulation of the LXRα gene in human macrophages. *J Biol Chem*. 2001;276:43509-15.
26. Joseph SB, Tontonoz P. LXRs: new therapeutic targets in atherosclerosis? *Curr Opin Pharmacol*. 2003;3:192-7.
27. Knight BL. ATP-binding cassette transporter A1: regulation of cholesterol efflux. *Biochem Soc Trans*. 2004;32:124-7.
28. Collins JL. Therapeutic opportunities for liver X receptor modulators. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2004;7:692-702.
29. Groot PH, Pearce NJ, Yates JW, Stocker C, Sauermelch C, Doe CP, et al. Synthetic LXR agonists increase LDL in CETP species. *J Lipid Res*. 2005;46:2182-91.
30. Naik SU, Wang X, Da Silva JS, Jaye M, Macphie CH, Reilly MP, et al. Pharmacological activation of liver X receptors promotes reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation*. 2006;113:90-7.
31. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med*. 2003;9:213-9.
32. Ogawa D, Stone JF, Takata Y, Blaschke F, Chu VH, Towler DA, et al. Liver x receptor agonists inhibit cytokine-induced osteopontin expression in macrophages through interference with activator protein-1 signaling pathways. *Circ Res*. 2005;96:e59-67.
33. Blaschke F, Leppanen O, Takata Y, Caglayan E, Liu J, Fishbein MC, et al. Liver X receptor agonists suppress vascular smooth muscle cell proliferation and inhibit neointima formation in balloon-injured rat carotid arteries. *Circ Res*. 2004;95:e110-23.
34. Scalia R, Pruefer D, Lefer AM. A novel lysophosphatidic acid analog, LXR-1035, inhibits leukocyte-endothelium interaction via inhibition of cell adhesion molecules. *J Leukoc Biol*. 2000;67:26-33.
35. Albers M, Blume B, Schlueter T, Wright MB, Kober I, Kremoser C, et al. A novel principle for partial agonism of LXR ligands: Competitive recruitment of activators and repressors. *J Biol Chem*. 2006;281:4920-30.
36. Forman BM, Goode E, Chen J, Oro AE, Bradley DJ, Perlmann T, et al. Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell*. 1995;81:687-93.
37. Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, Tu H, Learned RM, Luk A, et al. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science*. 1999;284:1362-5.
38. Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, Chandra G, Consler TG, Kliewer SA, et al. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science*. 1999;284:1365-8.
39. Howard WR, Pospisil JA, Njolito E, Noonan DJ. Catabolites of cholesterol synthesis pathways and forskolin as activators of the farnesoid X-activated nuclear receptor. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000;163:195-202.
40. Hanniman EA, Lambert G, McCarthy TC, Sinal CJ. Loss of functional farnesoid X receptor increases atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *J Lipid Res*. 2005;46:2595-604.
41. Shih DM, Kast-Woelbern HR, Wong J, Xia YR, Edwards PA, Lusis AJ. A role for FXR and human FGF-19 in the repression of paraoxonase-1 gene expression by bile acids. *J Lipid Res*. 2006;47:384-92.
42. Gutiérrez A, Ratliff EP, Andrés AM, Huang X, McKeehan WL, Davis RA. Bile acids decrease hepatic paraoxonase 1 expression and plasma high-density lipoprotein levels via FXR-mediated signaling of FGFR4. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:301-6.
43. Bishop-Bailey D, Walsh DT, Warner TD. Expression and activation of the farnesoid X receptor in the vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:3668-73.
44. He F, Li J, Mu Y, Kuruba R, Ma Z, Wilson A, et al. Downregulation of endothelin-1 by farnesoid X receptor in vascular endothelial cells. *Circ Res*. 2006;98:192-9.
45. Downes M, Verdecia MA, Roecker AJ, Hughes R, Hogenesch JB, Kast-Woelbern HR, et al. A chemical, genetic, and structural analysis of the nuclear bile acid receptor FXR. *Mol Cell*. 2003;11:1079-92.
46. Neuville P, Yan Z, Gidlof A, Pepper MS, Hansson GK, Gabbiani G, et al. Retinoic acid regulates arterial smooth muscle cell proliferation and phenotypic features in vivo and in vitro through an RARα-dependent signalling pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:1430-6.
47. Delerive P, Monte D, Dubois G, Trottein F, Fruchart-Najib J, Mariani J, et al. The orphan nuclear receptor RORα is a negative regulator of the inflammatory response. *EMBO Rep*. 2001;2:42-8.
48. Haxsen V, Adam-Stitah S, Ritz E, Wagner J. Retinoids inhibit the actions of angiotensin II on vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 2001;88:637-44.
49. Claudel T, Leibowitz MD, Fievet C, Tailleux A, Wagner B, Repa JJ, et al. Reduction of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice by activation of the retinoid X receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;27:2610-5.
50. Aranda A, Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev*. 2001;81:1269-304.
51. Deng T, Shan S, Li ZB, Wu ZW, Liao CZ, Ko B, et al. A new retinoid-like compound that activates peroxisome proliferator-activated receptors and lowers blood glucose in diabetic mice. *Biol Pharm Bull*. 2005;28:1192-6.
52. Leibowitz MD, Ardecky RJ, Boehm MF, Broderick CL, Carfagna MA, Crombie DL, et al. Biological characterization of a heterodi-

- mer-selective retinoid X receptor modulator: potential benefits for the treatment of type 2 diabetes. *Endocrinology*. 2006;147:1044-53.
53. Martínez-González J, Rius J, Castelló A, Cases-Langhoff C, Badimón L. Neuron-derived orphan receptor-1 (NOR-1) modulates vascular smooth muscle cell proliferation. *Circ Res*. 2003;92:96-103.
54. Rius J, Martínez-González J, Crespo J, Badimón L. Involvement of neuron-derived orphan receptor-1 (NOR-1) in LDL-induced mitogenic stimulus in vascular smooth muscle cells: role of CREB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:697-702.
55. Rius J, Martínez-González J, Crespo J, Badimón L. NOR-1 is involved in VEGF-induced endothelial cell growth. *Atherosclerosis*. 2006;184:276-82.
56. Crespo J, Martínez-González J, Rius J, Badimón L. Simvastatin inhibits NOR-1 expression induced by hyperlipemia by interfering with CREB activation. *Cardiovasc Res*. 2005;67:333-41.
57. Martínez-González J, Rius J, Badimón L. A nuclear orphan receptor (NOR-1) identified in human atherosclerotic plaques is expressed by activated monocytes and endothelial cells. Abstractα 072. *J Submicr Cytol Pathol*. 2000;32:357.
58. Pei L, Castrillo A, Chen M, Hoffmann A, Tontonoz P. Induction of NR4A orphan nuclear receptor expression in macrophages in response to inflammatory stimuli. *J Biol Chem*. 2005;280:29256-62.
59. Pei L, Castrillo A, Tontonoz P. Regulation of macrophage inflammatory gene expression by the orphan nuclear receptor Nur77. *Mol Endocrinol*. 2005 Dec 8 [Epub ahead of print].
60. Li H, Kolluri SK, Gu J, Dawson MI, Cao X, Hobbs PB, et al. Cytochrome c release and apoptosis induced by mitochondrial targeting of nuclear orphan receptor TR3. *Science*. 2000;289:1159-64.
61. Kim SO, Ono K, Tobias PS, Han J. Orphan nuclear receptor Nur77 is involved in caspase-independent macrophage cell death. *J Exp Med*. 2003;197:1441-52.
62. Shin HJ, Park KK, Lee BH, Moon CK, Lee MO. Identification of genes that are induced after cadmium exposure by suppression subtractive hybridization. *Toxicology*. 2003;191:121-31.
63. Wang Z, Benoit G, Liu J, Prasad S, Aarnisalo P, Liu X, et al. Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors. *Nature*. 2003;423:555-60.
64. Baker KD, Shewchuk LM, Kozlova T, Makishima M, Hassell A, Wisely B, et al. The Drosophila orphan nuclear receptor DHR38 mediates an atypical ecdysteroid signaling pathway. *Cell*. 2003;113:731-42.