

Actividad inmunomoduladora de las estatinas y su efecto potencial sobre las células T reguladoras FOXP3⁺

Ana Lucía Rodríguez Perea¹, Carlos Julio Montoya Guarín², Paula Andrea Velilla Hernández³

RESUMEN

Las estatinas constituyen un grupo de fármacos inhibidores de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa, que limitan la síntesis de colesterol y la producción de compuestos isoprenoides, fenómenos responsables de la reducción de la enfermedad aterosclerótica en individuos con hipercolesterolemia. Debido a la amplia prescripción y uso de estos fármacos, se han observado efectos benéficos adicionales, relacionados principalmente con la disminución de la síntesis de compuestos isoprenoides. Parte de estos efectos se asocia con la modulación del sistema inmune; sin embargo, su acción sobre las células T reguladoras (Treg) ha sido poco estudiada, a pesar de que estas células son fundamentales para regular la intensidad de la respuesta inmune y mantener la homeostasis inmunológica. En esta revisión abordamos las vías comunes por las cuales las estatinas y las células Treg pueden interactuar para regular la respuesta inmune. Aunque los resultados de las primeras investigaciones muestran que las estatinas aumentan la frecuencia y, posiblemente, la capacidad supresora de las células Treg, se requieren más estudios que permitan dilucidar si esta relación tiene consecuencias benéficas o perjudiciales para la regulación inmune, en diferentes contextos clínicos.

PALABRAS CLAVE

Factores de transcripción forkhead; Inhibidores de hidroximetilglutaril-CoA reductasas; Inmunomodulación

SUMMARY

Immunomodulatory activity of statins and their potential effect on the FOXP3⁺ regulatory T cells

Statins are a group of drugs that inhibit the enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, which limits cholesterol synthesis and production of isoprenoid compounds.

¹ Estudiante de Maestría de la Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Docente del Instituto de Investigaciones Médicas, Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

³ Docente del Departamento de Microbiología y Parasitología, Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Carlos Julio Montoya Guarín; cjmonto@une.net.co

Recibido: octubre 26 de 2010

Aceptado: diciembre 3 de 2010

phenomena responsible for the reduction of atherosclerotic disease in individuals with hypercholesterolemia. Due to the wide prescription and use of these drugs, some additional beneficial effects have been observed in various clinical settings, mainly related to the decreased production of isoprenoid compounds. Some of these effects have been associated with the modulation of the immune system, but their effect on regulatory T cells (Treg) has not been well studied, despite the fact these cells are crucial to regulate the intensity of the immune response and to preserve immune homeostasis. This review focuses on the common pathways through which statins and Treg cells interact to regulate the immune response. Although the results from early investigations show that statins increase the frequency and suppressive capacity of Treg cells, further research is required to determine whether that relationship produces beneficial or harmful consequences for the immune regulation in different clinical settings.

KEY WORDS

Forkhead Transcription Factors; Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors; Immunomodulation

INTRODUCCIÓN

En 1976 el doctor Akira Endo, después de analizar extractos de más de 6.000 microorganismos, aisló un metabolito del hongo *Penicillium citrinum* denominado compuesto ML-236B (luego conocido como mevastatina), capaz de inhibir competitivamente la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, que cataliza un paso limitante en la síntesis de colesterol y otros compuestos isoprenoides. Este químico japonés planteó que probablemente algunos microorganismos podrían producir metabolitos con capacidad para inhibir la HMG-CoA-reductasa como un mecanismo de defensa contra otros microorganismos agresores, que dependían del colesterol o de compuestos isoprenoides para la invasión y posterior crecimiento.

Durante la siguiente década se descubrieron otros metabolitos similares; entre ellos, la lovastatina aislada

del *Aspergillus terreus*; fue evaluada en ensayos clínicos entre 1984 y 1986 y se obtuvieron resultados satisfactorios de su acción hipolipemiente sin efectos adversos significativos, lo que fue suficiente para su aprobación en 1987 por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA, por la sigla en inglés de *Food and Drug Administration*) como un medicamento para tratar la hipercolesterolemia. A partir de ese momento, se desarrollaron nuevas estatinas mediante modificaciones bioquímicas, dando origen a la simvastatina y la pravastatina. Finalmente, ha sido posible la producción de moléculas similares pero totalmente sintéticas como la fluvastatina, atorvastatina, rosuvastatina y pitavastatina.

Aunque las distintas estatinas difieren en su solubilidad, vida media y potencia, han demostrado ser seguras y efectivas para la reducción del colesterol en millones de individuos (1); muchos ensayos clínicos han evidenciado su impacto positivo en la reducción de la enfermedad cardiovascular (1). Además, ensayos experimentales, tanto *in vitro* como *in vivo*, han encontrado otros efectos biológicos que no están necesariamente relacionados con la reducción del colesterol plasmático, conocidos como efectos pleiotrópicos (2). Se cree que esos efectos se pueden deber a la disminución de la síntesis del L-mevalonato, lo que afectaría la comunicación intercelular al impedir la formación de balsas de lípidos en la superficie celular, así como la función de diferentes subpoblaciones celulares al limitar la prenilación de proteínas de señalización intracelular (3). Estos efectos benéficos se han demostrado claramente en la enfermedad aterosclerótica, tanto por el control de la producción de óxido nítrico (reduciendo el daño oxidativo) como por los efectos antiinflamatorios, inmunomoduladores y antitrombóticos de las estatinas, que contribuyen al mejoramiento de la función endotelial (4). De forma similar, los efectos pleiotrópicos benéficos de las estatinas se han observado, entre otras, en enfermedades autoinmunes, en la tolerancia a trasplantes y en diferentes infecciones (5).

Diversos estudios *in vitro* han demostrado los efectos de las estatinas sobre las células del sistema inmune, al modular la respuesta de linfocitos T efectoros (LT), linfocitos B (LB), monocitos y células dendríticas (DC). Recientemente se informó que estos fármacos también afectan a una subpoblación de células T CD4⁺,

conocidas como células T reguladoras, responsables de la modulación de la respuesta inmune en diferentes contextos; sin embargo, apenas se comienza a explorar la relevancia de esta modulación.

Esta revisión describe los mecanismos mediante los cuales las estatinas pueden modular la respuesta inmune y la posible relación de estos mecanismos con la inducción y/o activación de la subpoblación de células T con función reguladora; así mismo, se postulan posibles vías de integración de estos mecanismos.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LAS ESTATINAS

Las estatinas inhiben la reducción de la HMG-CoA, paso necesario para generar L-mevalonato (figura n.º 1), lo que resulta en la disminución de la producción de colesterol, componente de las membranas biológicas y de las balsas lipídicas. En esas balsas el colesterol se une con esfingolípidos y proteínas ancladas a través del glicosilfosfatidilinositol (GPI), para conformar una estructura que cumple funciones tan importantes como permitir el reclutamiento de diferentes moléculas sobre la cara interna de la membrana, como el receptor de células T, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (CMH-II), el antígeno asociado a la función leucocitaria 1 (LFA-1) y el antígeno 4 asociado al linfocito T citotóxico (CTLA-4), moléculas desde las cuales se da inicio a la señalización intracelular (6,7). Además, las balsas de lípidos están relacionadas con otras funciones como la apoptosis, el transporte de vesículas hacia la membrana celular y la endocitosis (8).

El otro efecto resultante de la inhibición de la síntesis de L-mevalonato es la reducción de la producción de compuestos isoprenoides no esteroideos, como el farnesilpirofosfato (FPP) y el geranilgeranil pirofosfato (GGPP), moléculas claves para la prenilación postraduccional de proteínas como la laminina nuclear, proteínas cinasas y pequeñas proteínas unidoras de GTP pertenecientes a las familias Ras, Rho y Rap. La adición de grupos derivados del isopreno a un residuo de cisteína localizado en el extremo carboxiterminal de una proteína se conoce como prenilación o isoprenilación, y es necesaria para el anclaje de proteínas GTPasas en la cara interna de la membrana citoplasmática, permitiendo la transmisión específica de señales para la activación de diferentes procesos celulares (9) (figura

n.º 1). La isoprenilación con FPP es importante para la localización intracelular adecuada de proteínas de la familia Ras, fenómeno asociado con la activación y proliferación celulares. La isoprenilación con GGPP de proteínas de la familia Rho, que incluye las proteínas Rho, Rac y Cdc42, es clave para la regulación de los cambios del citoesqueleto que se dan en respuesta a un estímulo extracelular; estos cambios están implicados en la morfogénesis, migración, división y adhesión celulares, así como en procesos de endocitosis y regulación de la expresión de genes (10).

La relevancia de estos últimos mecanismos de inmunomodulación mediados por las estatinas surgió de estudios realizados por Athyros y colaboradores en los que se demostró que los niveles de L-mevalonato en sangre disminuían dos horas después de la administración de estatinas por vía oral, mientras que los de colesterol LDL disminuían significativamente solo después de 6-7 días de iniciar la ingesta de estos medicamentos (11). Dado que los compuestos isoprenoides tienen una vida media relativamente corta (de 20 a 30 horas) y se sintetizan bajo demanda (12), esto explicaría su relación con el efecto benéfico inmediato de las estatinas y su acción inmunomoduladora de comienzo temprano. A estos hallazgos se suman evidencias clínicas, como que la administración temprana de estatinas a individuos con infarto del miocardio, antes de las 24 horas de hospitalización, tiene un efecto benéfico al reducir las complicaciones y la mortalidad intrahospitalaria (11). En conjunto, estas evidencias indican que gran parte de los efectos inmunomoduladores benéficos tempranos de estos fármacos están asociados fundamentalmente con la merma de la prenilación de proteínas y no tanto con la disminución de la síntesis de colesterol.

ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA DE LAS ESTATINAS

La modulación de la respuesta inmune por las estatinas se puede dar de forma directa, mediante el bloqueo de moléculas específicas de superficie que son fundamentales para la interacción célula-célula, en particular de LFA-1, así como por inhibición de la síntesis de L-mevalonato con la consecuente disminución de la producción de colesterol, de balsas de lípidos y de compuestos isoprenoides.

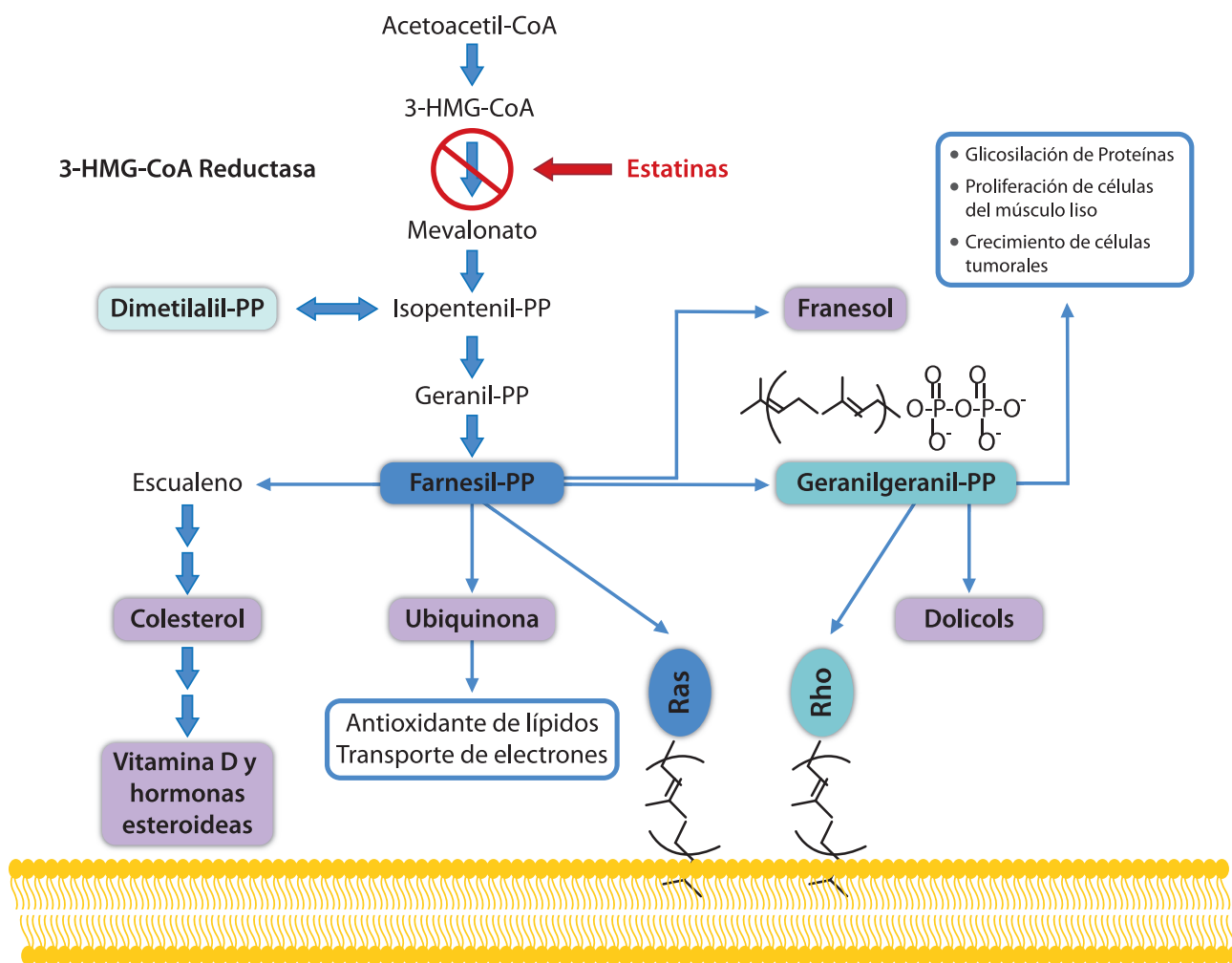


Figura n.º 1. Vía de generación del mevalonato y síntesis de isoprenoides. En este esquema de reacciones bioquímicas se indica el sitio específico en el que las estatinas bloquean la síntesis del mevalonato, conduciendo a la inhibición de la producción de metabolitos importantes en la célula como los isoprenoides de tipo esteroide (colesterol) e isoprenoides no esteroideos (geranilgeranil pirofosfato y farnesil pirofosfato). PP: pirofosfato; CoA: coenzima A; HMG: hidroximetilglutaril

Bloqueo de la molécula LFA-1: LFA-1 (por la sigla en inglés de *leukocyte-function adhesion molecule-1*) es un receptor heterodimérico tipo integrina (CD11a/CD18) que se expresa en más del 90% de los timocitos, linfocitos T maduros, linfocitos B, granulocitos y monocitos; su ligando específico es la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1, por la sigla en inglés de *intercellular adhesion molecule-1*, o CD54), que se expresa en células hematopoyéticas y no hematopoyéticas como LT, LB, células dendríticas (DC), macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y

células endoteliales. La molécula LFA-1 es clave para la migración de diversas subpoblaciones linfocitarias hacia los órganos linfoides u otros tejidos, y para establecer la sinapsis inmunológica entre el LT y la célula presentadora de antígenos (CPA) (13).

Las estatinas pueden unirse alostéricamente a un sitio llamado L (por la unión de la lovastatina) localizado en la cadena α de LFA-1, bloqueando su interacción con la molécula ICAM-1; este bloqueo es independiente de la inhibición de la síntesis del mevalonato y sus metabolitos (14).

Inhibición de la expresión de moléculas del

CMH-II: las moléculas del CMH-II se expresan constitutivamente en las CPA, pero además pueden inducirse por citocinas en diferentes células como las del endotelio vascular. La expresión de los genes del CMH-II está regulada a nivel transcripcional por el transactivador de clase II (CIITA), proceso controlado a su vez por cuatro promotores diferentes (15); entre ellos, el promotor IV media la expresión del CMH-II inducida por interferón gamma (IFN- γ). Se ha demostrado en cerdos que el tratamiento con estatinas inhibe la actividad funcional del promotor IV en células del endotelio vascular estimuladas con IFN- γ , afectando la expresión del CMH-II (16). Además, Kuipers y colaboradores demostraron en humanos que la simvastatina disminuye la expresión de moléculas del CMH-II en LT y LB; el mecanismo propuesto, además de la inhibición de la expresión de CIITA, es el efecto inhibitorio que tienen estos fármacos sobre la actividad del citoesqueleto, el cual es normalmente activado por pequeñas Rho GTPasas preniladas (17). La adición de L-mevalonato y GGPP logra revertir el efecto inhibitorio de las estatinas sobre la expresión del CMH-II, demostrando que las Rho GTPasas estarían mediando esa expresión. Como consecuencia de estos fenómenos, las estatinas pueden afectar la presentación antigénica, lo que resultaría en una alteración funcional y de diferenciación de las células T.

Alteración en la producción de citocinas y

quimiocinas: diferentes modelos experimentales *in vitro* han confirmado la regulación negativa que ejercen las estatinas sobre la producción de citocinas y el restablecimiento de esa producción al agregar L-mevalonato (18). En un estudio efectuado con sinoviocitos provenientes de pacientes con artritis reumatoide, incubados *in vitro* con IL-1 y simvastatina, se observó una reducción significativa en la producción de las citocinas proinflamatorias IL-6 e IL-8 (19). Asimismo, en un estudio con células de pacientes con hipercolesterolemia que se encontraban bajo tratamiento con simvastatina, se observó una disminución en la producción de TNF- α e IL-6 por los monocitos activados con lipopolisacárido (LPS) (20). Por otro lado, Wei-Min Li y colaboradores, utilizando en ratas un modelo experimental de miocarditis autoinmune inducida

por miosina cardíaca porcina, demostraron que la atorvastatina inhibía la producción de las citocinas tipo Th1 (IFN- γ e IL-2), e incrementaba las citocinas tipo Th2 (como IL-4 e IL-10) (21). Esa polarización de la respuesta inmune hacia un perfil tipo Th2 se explica por la disminución de la prenilación de proteínas Ras y Rho-A, lo cual afecta su asociación con la membrana y altera el inicio de las señales intracelulares mediadas por cinasas reguladas por señales extracelulares, de la familia ERK (por la sigla en inglés de *extracellular signal-regulated kinases*) y de p38, una cinasa de la familia MAPK (por la sigla en inglés de *mitogen-activated protein kinases*) (22).

En cuanto a la expresión de quimiocinas, Veillard y colaboradores demostraron por experimentos *in vitro* en macrófagos y células endoteliales humanas que la simvastatina reducía la expresión de MCP1, MIP1 α y MIP1 β , y de los receptores de quimiocinas CCR1, CCR2, CCR4 y CCR5, fenómeno mediado por la inhibición de la geranilgeranilación de RhoA (23), que confirma el efecto antiinflamatorio de las estatinas.

Otros efectos sobre las células del sistema inmune:

se ha observado que al inhibir la prenilación de las proteínas Rho, Rac y Ras se altera la proliferación de una variedad de células inmunes y se promueve su apoptosis por varios mecanismos, como aumentar la expresión de la proteína p27 para detener la progresión del ciclo celular en la fase G1-S, lo que favorece la inducción de apoptosis (24). En otros mecanismos proapoptóticos dependientes de la inhibición de la isoprenilación de RhoA, las estatinas incrementan la producción de óxido nítrico (ON) al activar la enzima óxido-nítrico-sintasa inducible (iNOS) (25) y activan las caspasas 3, 8 y 9 (26), mientras que reducen la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 (27).

En las DC se observó que las estatinas reducen significativamente la expresión de marcadores de maduración y activación, como CD83, CD40, CD86, HLA-DR y CCR7, en respuesta a diferentes estímulos; esto se traduce en una alteración de la capacidad funcional de estas células, como se evidenció en ensayos clásicos de proliferación de LT. Nuevamente, estos efectos inhibitorios de las estatinas fueron revertidos por la adición de L-mevalonato (28).

Otras células blanco del efecto de las estatinas son las asesinas naturales (NK); Tanaka y colaboradores

demonstraron una alteración en la exocitosis de los gránulos de estas células después del tratamiento *in vitro* con estos fármacos, afectando su actividad citotóxica al disminuir la expresión de CD107 (proteína 1 de membrana asociada al lisosoma, LAMP-1, por la sigla en inglés de *lysosomal-associated membrane protein*) y la liberación de la granzima B (29).

Recientemente se sugirió que las células T reguladoras (Treg) FOXP3⁺, de particular actividad inmunomoduladora, también podrían ser un blanco de la acción de las estatinas. Aunque la evidencia directa disponible hasta la fecha es muy escasa, se ha postulado que al menos parte del efecto inmunomodulador observado después del tratamiento con estos fármacos se debe a su efecto positivo sobre la expansión y activación de estas células. A continuación consideramos en más detalle las características y función de las células Treg, y planteamos cómo las estatinas, por sus efectos sobre este grupo de células, pueden modular la respuesta inmune.

CÉLULAS T REGULADORAS

En general, las células T reguladoras (Treg) comprenden un amplio grupo de células T inmunosupresoras clasificadas en subpoblaciones de acuerdo con su origen, mecanismos de acción, producción de citocinas y expresión de marcadores fenotípicos. Así, existen las células Treg naturales (Tregn) y las células Treg adaptativas (Trega); las células Tregn se derivan del timo y expresan constitutivamente el factor de transcripción FOXP3, mientras que las células Trega no expresan este factor, se diferencian en la periferia y se clasifican como células Tr1 productoras de IL-10 y células Th3 productoras del factor transformante de crecimiento beta (TGF- β) (30). Además, se ha descrito una nueva subpoblación de linfocitos T efectoras que expresan transitoriamente el factor FOXP3 y se han denominado células Treg inducidas (Tregi); no obstante la expresión de este factor asociado con la actividad supresora, su función reguladora todavía está por confirmarse (31).

Aunque algunos de los mecanismos de supresión de las diferentes células Treg pueden ser similares, esta revisión se centrará en las células Tregn FOXP3⁺.

Células Treg naturales

Las células Tregn constituyen un subgrupo de linfocitos T CD4⁺ que representa entre 1% y 10% del total de las células T CD4⁺ de la sangre periférica, el timo y los tejidos linfoides (32). Se caracterizan por expresar constitutivamente, y en alta densidad, la cadena alfa del receptor de la IL-2 (CD25) y el factor de transcripción FOXP3 (de la familia *forkhead box protein*), el cual es indispensable para su desarrollo y función (33). Fenotípicamente, estas células también expresan otras moléculas de superficie como el receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR, *glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor family-related gene*), la molécula OX40 (CD134), el ligando de CD62 (CD62L), el CTLA-4 y receptores de quimiocinas como CCR4, CCR5, CCR8 (34).

Las células Tregn mantienen la homeostasis inmunológica mediante un mecanismo simultáneo de reconocimiento y tolerancia a los antígenos propios, y de supresión de la respuesta inmune patológica (35). Un aumento en la frecuencia y actividad supresora de las células Tregn puede dar lugar a una mayor susceptibilidad a las infecciones y a la aparición de cáncer, mientras que su disminución está asociada con la aparición de enfermedades autoinmunes y alergias, razón por la cual diversos mecanismos controlan su expansión y activación (35). Además, varias observaciones *in vivo* y ensayos *in vitro* han demostrado que mutaciones en el gen FOXP3 conducen a la aparición de fenómenos autoinmunes, conocidos como fenotipo *Scurfy* en el modelo murino, y en los seres humanos como un síndrome ligado al cromosoma X con regulación inmune alterada, inmunodeficiencia, poliendocrinopatía y enteropatía (síndrome IPEX, por la sigla en inglés de *immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome*) (31). El factor FOXP3 regula la expresión de genes en las células Tregn por su asociación con otros factores de transcripción, como el factor nuclear de células T activadas (NFAT, por la sigla en inglés de *nuclear factor of activated cells*), el factor nuclear kappa B (NF- κ B), el factor de leucemia mieloide aguda (AML-1, por la sigla en inglés de *acute myeloid leukemia-1*) y el factor de transcripción 1 relacionado con Runt (RunX1), y por el reclutamiento y asociación con histonas deacetilasas

e histonas acetiltransferasas (36). De esta forma, el factor FOXP3 tiene la capacidad de activar o suprimir la expresión de diferentes genes; puede actuar como un correpresor cuando se asocia con el factor NF- κ B para suprimir la expresión de IL-4, o con el factor NFAT para reprimir la expresión de la IL-2, fenómenos que explican por qué las células Tregn tienen baja producción de citocinas; también puede actuar de forma cooperativa cuando se asocia con NFAT para inducir la expresión de CTLA-4 y CD25 (37,38). La activación de las células Tregn está restringida por el conjunto CMH-antígeno-TCR (*T cell receptor*) (39), es decir, es una activación antígeno-específica; las células Tregn expresan de preferencia un TCR que reconoce antígenos propios. Sin embargo, una vez activadas, estas células son capaces de suprimir no solo las células específicas para ese autoantígeno sino también clones con otras especificidades. Además de la señal mediada por la IL-2, indispensable para el adecuado desarrollo y función de estas células, también se requieren otros factores de transcripción correpresores y coactivadores y otras citocinas como IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15, importantes para su funcionamiento (40).

Las células Tregn suprimen la activación, proliferación y función efectora de diferentes subpoblaciones celulares como LT CD4⁺, LT CD8⁺, células NK y NKT, DC y LB (31). Las Tregn pueden ejercer su acción supresora por mecanismos dependientes e independientes de contacto, este último por medio de la producción de citocinas.

Supresión dependiente de contacto célula-célula: las CPA son consideradas en la actualidad los blancos primarios de la acción supresora de las células Tregn. Diferentes modelos experimentales, utilizando videomicroscopía y microscopía confocal, han evidenciado que las células Tregn forman inicialmente interacciones duraderas con las DC (41,42); estas interacciones dependen de la expresión de LFA-1 por las Tregn y de ICAM-1 por las DC, y resultan en la regulación negativa de moléculas coestimuladoras como CD80/CD86, previniendo la activación de las células T efectoras (35,41).

Otro de los mecanismos de supresión por contacto de las células Tregn es su capacidad para inducir en las DC la producción de la enzima catabolizadora del triptófano indolamina 2,3-deoxigenasa (IDO), por la interacción entre las moléculas CTLA-4 (por la sigla en inglés de *cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*) (Tregn) y CD80 (DC); esta enzima es responsable de la degradación de L-triptófano por la vía metabólica de la N-formilquinurenina, para generar quinurenina y ácido fórmico. El resultado de esta reacción es la privación de las células de este aminoácido esencial, así como la producción de metabolitos proapoptóticos e inmunosupresores, que conducen a inhibir la proliferación y a muerte celular (43).

Las células Tregn también pueden suprimir la función de los LT y LB mediante la expresión de granzimas A y B y de perforinas, que inducen la apoptosis de estos dos tipos de linfocitos (44). Finalmente, la expresión de TRAIL un ligando inductor de apoptosis relacionado con el TNF (por la sigla en inglés de *TNF-related apoptosis inducing ligand*) en las células Tregn las capacita para interactuar con las células T CD4⁺ efectoras que expresan DR5, lo que resulta en la inducción de apoptosis de las células T efectoras (45).

Supresión independiente de contacto: la producción de citocinas inhibitorias, como IL-10 y TGF- β , constituye otro mecanismo de supresión utilizado por las células Tregn. La IL-10 afecta la capacidad presentadora de antígenos de las DC, mediante la regulación negativa de moléculas del CMH-II y de moléculas coestimuladoras (CD80/CD86), y de la inhibición de la producción de IL-12 (46). El TGF- β es una citocina con actividad inmunosupresora potente que modula la tasa de proliferación, la diferenciación y la apoptosis de las células T efectoras (47), así como la expresión de moléculas del CMH-II y de moléculas coestimuladoras sobre las DC; esta citocina también está involucrada en la conversión de células T efectoras FOXP3 negativas en células T FOXP3⁺, indicando que el TGF- β regula positivamente la expresión de FOXP3 y de esta forma mantiene la homeostasis periférica de las células Treg (48).

EFFECTOS DE LAS ESTATINAS SOBRE LAS CÉLULAS TREG

Como se mencionó previamente, a pesar del novedoso potencial inmunomodulador atribuido a las estatinas, se sabe poco de sus efectos sobre las células Treg. El trabajo más importante lo desarrollaron Mausner y colaboradores (49) quienes, mediante experimentos *in vitro* e *in vivo*, demostraron el efecto de la atorvastatina sobre la expansión y activación de las células Treg: aumento en la frecuencia de células T CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ y en la expresión de FOXP3 (por *Western blot*), y la conversión de células CD4⁺CD25⁻FOXP3⁻ en células CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ (49). Además, Mira y colaboradores, en un modelo murino de infección por *Candida albicans*, también observaron un aumento de células Treg (CD4⁺FOXP3⁺), tanto en el sitio de inoculación del microorganismo como en los ganglios linfáticos periféricos, después de la administración intraperitoneal de lovastatina; este evento fue mediado por el aumento local en la expresión de la quimiocina CCL1, citocina que dirigió el reclutamiento de estas células en el sitio de inflamación (50).

En un modelo murino de encefalitis autoinmune experimental (EAE) se observaron efectos similares en cuanto a la acumulación de las células Treg en la médula espinal después de la terapia combinada con rolipram y lovastatina; esta acumulación estuvo acompañada de un aumento en la expresión de IDO por las DC (51). Si bien todos estos estudios sugieren que las estatinas pueden ejercer parte de su acción inmunomoduladora por sus efectos en las células Treg FOXP3⁺, aún no se ha estudiado el mecanismo responsable de estos fenómenos. Sin embargo, se podría postular que, al igual que para la mayoría de los efectos atribuidos a las estatinas, está implicada la inhibición de la prenilación de las proteínas citoplasmáticas de las células Treg. De hecho, Mor y colaboradores demostraron que la inhibición de la prenilación de proteínas, particularmente de las isoformas N y K de las proteínas Ras-GTP, inducía un incremento en la expresión de FOXP3 en las células Treg preexistentes, al igual que favorecía la conversión de células T CD4⁺CD25⁻ en células CD4⁺CD25⁺ funcionales (52).

Más recientemente, Kim y colaboradores, tratando de comprender cómo las estatinas modulan el fenotipo

y la función de las células Treg, demostraron en ensayos *in vitro* que los efectos de las estatinas eran secundarios al bloqueo en la geranilación de las proteínas, y que bajas concentraciones de TGF-β en los cultivos celulares tenían un efecto sinérgico con la simvastatina, favoreciendo la conversión de células FOXP3 negativas hacia células FOXP3⁺. Este efecto sinérgico también se asoció con la demetilación de seis islas de dinucleótidos CpG ubicadas en el promotor del gen para FOXP3, apoyando la hipótesis de que parte del efecto inmunomodulador de las estatinas se debe a la generación de células Treg FOXP3⁺ (53).

De otro lado, Goldstein y colaboradores han postulado que la relación entre las células Treg y las estatinas podría tener varios efectos diferenciales dependiendo del modelo de enfermedad analizado y del tiempo y la dosis administrada. Podrían existir efectos negativos debidos a la inducción exagerada de células Treg funcionales que supriman la respuesta inmune específica contra tumores y microorganismos patógenos, aumentando el riesgo de desarrollar cáncer y favoreciendo la persistencia de las infecciones, respectivamente (54,55). En contraste, podrían existir efectos positivos en el caso de trasplantes, enfermedades autoinmunes y la enfermedad aterosclerótica, dado que un aumento de las células Treg podría promover la tolerancia al tejido trasplantado y a los autoantígenos, y ayudaría a controlar la formación de la placa de ateroma. Si bien las evidencias apuntan a que las células Treg expuestas a las estatinas son funcionales, es importante considerar que estos fármacos también podrían regular negativamente la actividad funcional de las Treg, en particular si se consideran los efectos previamente descritos sobre otras subpoblaciones celulares (figura n.º 2).

CONCLUSIONES

Los efectos hipolipemiantes de las estatinas han disminuido considerablemente la frecuencia y gravedad de la enfermedad cardiovascular. Además, su actividad inmunomoduladora se ha evidenciado en numerosos ensayos clínicos que, sumados a su uso masivo durante varias décadas, han demostrado su seguridad y eficacia clínica. Sin embargo, el impacto

real que puedan tener las estatinas sobre la frecuencia, fenotipo y actividad funcional de las células Treg es un aspecto que requiere estudio adecuado, con el fin de ampliar el conocimiento sobre su papel en la fisiología de la regulación inmune. A la fecha, no existen evidencias suficientes que demuestren la relación entre el consumo de estatinas y la regulación de la respuesta inmune por las células Treg, y las consecuencias de esta asociación. Este panorama motiva a hacer estudios *in vitro* y *ex vivo* que permitan determinar la frecuencia, el fenotipo y la actividad funcional de las células Treg durante el tratamiento con estatinas. Asimismo, es apremiante llevar a cabo estudios que permitan dilucidar los mecanismos moleculares subyacentes involucrados en esta relación, y explorar si los diferentes tipos de estatinas tienen distinta actividad inmunomoduladora sobre las Treg FOXP3⁺. Recientemente se determinó que las células Tregn tienen como característica heredable la demetilación del promotor del gen para

el factor FOXP3, permitiendo la expresión constitutiva de este gen; lo contrario se observa en las células Treg inducidas, pues tienen parcialmente metilado este promotor (56). Con el tratamiento con bisulfito de sodio y una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, que utiliza cebadores específicos para las regiones metiladas y no metiladas del gen para FOXP3, podría determinarse con más fidelidad si las estatinas inducen o no la expansión de células Tregn. Estos hallazgos, en conjunto, podrían determinar en qué medida la actividad ejercida por las estatinas sobre las células Treg es responsable de los efectos pleiotrópicos e inmunomoduladores observados durante el tratamiento con estatinas. Finalmente, estos estudios también permitirían dejar a un lado los supuestos y definir el efecto benéfico o perjudicial de las estatinas en diferentes enfermedades mediadas por mecanismos inmunes, dependiendo de la dosis y el tiempo de tratamiento.

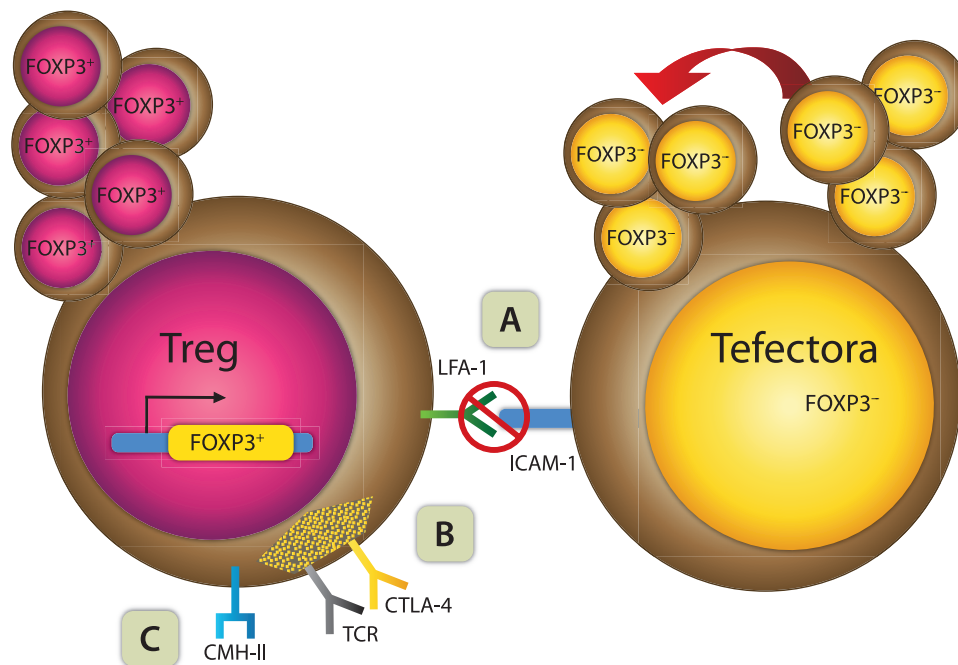


Figura n.º 2. Efectos negativos de las estatinas sobre la función de las células Treg

Bloqueo alostérico de LFA-1: A) Las células Treg expresan la molécula LFA-1, que tiene importancia funcional mediante la interacción con ICAM-1 expresada en los blancos celulares de las Treg; las estatinas se unen al sitio L de la LFA-1 para impedir esta interacción. B) Inhibición de la síntesis de colesterol, que altera la formación de las balsas de lípidos, afectando la expresión de moléculas asociadas con la actividad funcional de las células Treg (CTLA-4, LFA-1, CMH-II). C) Disminución en la expresión de HLA-DR: entre un 20% y un 30% de las células Treg FOXP3⁺ expresan en la superficie moléculas del CMH-II, otorgándole a esta subpoblación de células maduras funciones específicas; al inhibir la expresión de moléculas del CMH-II, se disminuye la capacidad de las Treg para suprimir las células T efectoras mediante el contacto por el TCR, o la comunicación entre dos células Treg a través de las moléculas del CMH-II

AGRADECIMIENTOS

Al Programa Sostenibilidad 2009-2011 de la Universidad de Antioquia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nat Rev Immunol*. 2006 May;6(5):358-70.
2. Sassano A, Plataniias LC. Statins in tumor suppression. *Cancer Lett*. 2008 Feb 18;260(1-2):11-9.
3. Mach F. Statins as immunomodulators. *Transpl Immunol*. 2002 May;9(2-4):197-200.
4. Fonarow GC, Wright RS, Spencer FA, Fredrick PD, Dong W, Every N, et al. Effect of statin use within the first 24 hours of admission for acute myocardial infarction on early morbidity and mortality. *Am J Cardiol*. 2005 Sep 1;96(5):611-6.
5. Paraskevas KI, Tzovaras AA, Briana DD, Mikhailidis DP. Emerging indications for statins: a pluripotent family of agents with several potential applications. *Curr Pharm Des*. 2007 Jan ;13(35):3622-36.
6. Marwali MR, MacLeod MA, Muzia DN, Takei F. Lipid rafts mediate association of LFA-1 and CD3 and formation of the immunological synapse of CTL. *J Immunol*. 2004 Sep 1;173(5):2960-7.
7. Darlington PJ, Baroja ML, Chau TA, Siu E, Ling V, Carreno BM, et al. Surface cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 partitions within lipid rafts and relocates to the immunological synapse under conditions of inhibition of T cell activation. *J Exp Med*. 2002 May 20;195(10):1337-47.
8. Liao Z, Graham DR, Hildreth JEK. Lipid rafts and HIV pathogenesis: virion-associated cholesterol is required for fusion and infection of susceptible cells. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2003 Aug;19(8):675-87.
9. Wang C-Y, Liu P-Y, Liao JK. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol Med*. 2008 Jan;14(1):37-44.
10. Rikitake Y, Hirata K-I. Inhibition of RhoA or Rac1? Mechanism of cholesterol-independent beneficial effects of statins. *Circ J*. 2009 Feb;73(2):231-2.
11. Athyros VG, Kakafika AI, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Pleiotropic effects of statins--clinical evidence. *Curr Pharm Des*. 2009 Jan;15(5):479-89.
12. Corsini A, Ferri N, Cortellaro M. Are pleiotropic effects of statins real? *Vasc Health Risk Manag*. 2007 Jan ;3(5):611-3.
13. Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med*. 2001 Jun;7(6):687-92.
14. Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Dawson J, Kallen J. Improved lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) inhibition by statin derivatives: molecular basis determined by x-ray analysis and monitoring of LFA-1 conformational changes in vitro and ex vivo. *J Biol Chem*. 2004 Nov 5;279(45):46764-71.
15. Ting JP-Y, Trowsdale J. Genetic control of MHC class II expression. *Cell*. 2002 Apr;109 Suppl:S21-33.
16. Geissler I, Collins L, Schofield R, Fabre JW. In vivo suppression of major histocompatibility complex class II expression on porcine vascular endothelial cells by an HMG-CoA reductase inhibitor. *Transplantation*. 2006 Mar 27;81(6):922-6.
17. Kuipers HF, Biesta PJ, Groothuis TA, Neefjes JJ, Mommaas AM, Elsen PJ van den. Statins affect cell-surface expression of major histocompatibility complex class II molecules by disrupting cholesterol-containing microdomains. *Hum Immunol*. 2005 Jun;66(6):653-65.
18. Zeiser R, Maas K, Youssef S, Dürr C, Steinman L, Negrin RS. Regulation of different inflammatory diseases by impacting the mevalonate pathway. *Immunology*. 2009 May;127(1):18-25.
19. Lazzerini PE, Lorenzini S, Selvi E, Capocchi PL, Chindamo D, Bisogno S, et al. Simvastatin inhibits cytokine production and nuclear factor- κ B activation in interleukin 1 β -stimulated synoviocytes from rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*. 25(5):696-700.
20. Devaraj S, Chan E, Jialal I. Direct demonstration of an antiinflammatory effect of simvastatin in subjects with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Nov;91(11):4489-96.
21. Li W-M, Liu W, Gao C, Zhou B-G. Immunoregulatory effects of atorvastatin on experimental autoimmune

- myocarditis in Lewis rats. *Immunol Cell Biol.* 2006 Jun;84(3):274-80.
22. Dunn SE, Youssef S, Goldstein MJ, Prod'homme T, Weber MS, Zamvil SS, et al. Isoprenoids determine Th1/Th2 fate in pathogenic T cells, providing a mechanism of modulation of autoimmunity by atorvastatin. *J Exp Med.* 2006 Feb 20;203(2):401-12.
 23. Veillard NR, Braunersreuther V, Arnaud C, Burger F, Pelli G, Steffens S, et al. Simvastatin modulates chemokine and chemokine receptor expression by geranylgeranyl isoprenoid pathway in human endothelial cells and macrophages. *Atherosclerosis.* 2006 Sep;188(1):51-8.
 24. Brinkkoetter P-T, Gottmann U, Schulte J, Woude FJ van der, Braun C, Yard BA. Atorvastatin interferes with activation of human CD4(+) T cells via inhibition of small guanosine triphosphatase (GTPase) activity and caspase-independent apoptosis. *Clin Exp Immunol.* 2006 Dec;146(3):524-32.
 25. Kotamraju S, Williams CL, Williams CL, Kalyanaraman B. Statin-induced breast cancer cell death: role of inducible nitric oxide and arginase-dependent pathways. *Cancer Res.* 2007 Aug 1;67(15):7386-94.
 26. Kubota T, Fujisaki K, Itoh Y, Yano T, Sendo T, Oishi R. Apoptotic injury in cultured human hepatocytes induced by HMG-CoA reductase inhibitors. *Biochem Pharmacol.* 2004 Jun 15;67(12):2175-86.
 27. Blanco-Colio LM, Villa A, Ortego M, Hernández-Presa MA, Pascual A, Plaza JJ, et al. 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, induce apoptosis of vascular smooth muscle cells by downregulation of Bcl-2 expression and Rho A prenylation. *Atherosclerosis.* 2002 Mar;161(1):17-26.
 28. Yilmaz A, Reiss C, Tantawi O, Weng A, Stumpf C, Raaz D, et al. HMG-CoA reductase inhibitors suppress maturation of human dendritic cells: new implications for atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2004 Jan;172(1):85-93.
 29. Tanaka T, Porter CM, Horvath-Arcidiacono JA, Bloom ET. Lipophilic statins suppress cytotoxicity by freshly isolated natural killer cells through modulation of granule exocytosis. *Int Immunol.* 2007 Feb;19(2):163-73.
 30. Schiopu A, Wood KJ. Regulatory T cells: hopes and limitations. *Curr Opin Organ Transplant.* 2008 Aug;13(4):333-8.
 31. Piccirillo CA. Regulatory T cells in health and disease. *Cytokine.* 2008 Sep;43(3):395-401.
 32. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2004 Jan;22:531-62.
 33. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003 Feb 14;299(5609):1057-61.
 34. Kim CH. Migration and function of FoxP3+ regulatory T cells in the hemato-lymphoid system. *Exp Hematol.* 2006 Aug;34(8):1033-40.
 35. Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med.* 2007 Mar;13(3):108-16.
 36. Shen Z, Chen L, Hao F, Wu J. Transcriptional regulation of Foxp3 gene: multiple signal pathways on the road. *Med Res Rev.* 2009 Sep;29(5):742-66.
 37. Bettelli E, Dastrange M, Oukka M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Apr 5;102(14):5138-43.
 38. Hu H, Djuretic I, Sundrud MS, Rao A. Transcriptional partners in regulatory T cells: Foxp3, Runx and NFAT. *Trends Immunol.* 2007 Aug;28(8):329-32.
 39. Wong J, Obst R, Correia-Neves M, Losyev G, Mathis D, Benoist C. Adaptation of TCR repertoires to self-peptides in regulatory and nonregulatory CD4+ T cells. *J Immunol.* 2007 Jun 1;178(11):7032-41.
 40. Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, Rudensky AY. A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2005 Nov;6(11):1142-51.
 41. Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Jul 22;105(29):10113-8.
 42. Tang Q, Adams JY, Tooley AJ, Bi M, Fife BT, Serra P, et al. Visualizing regulatory T cell control of autoimmune responses in nonobese diabetic mice. *Nat Immunol.* 2006 Jan;7(1):83-92.

43. King NJC, Thomas SR. Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007 Jan;39(12):2167-72.
44. Gondek DC, Lu L-F, Quezada SA, Sakaguchi S, Noelle RJ. Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4+CD25+ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J Immunol.* 2005 Feb 15;174(4):1783-6.
45. Ren X, Ye F, Jiang Z, Chu Y, Xiong S, Wang Y. Involvement of cellular death in TRAIL/DR5-dependent suppression induced by CD4(+) CD25(+) regulatory T cells. *Cell Death Differ.* 2007 Dec;14(12):2076-84.
46. Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VFI, Berneman ZN. Regulatory T cells and human disease. *Clin Dev Immunol.* 2007 Jan;200789195.
47. Mirshafiey A, Mohsenzadegan M. TGF-beta as a promising option in the treatment of multiple sclerosis. *Neuropharmacology.* 56(6-7):929-36.
48. Pyzik M, Piccirillo CA. TGF-beta1 modulates Foxp3 expression and regulatory activity in distinct CD4+ T cell subsets. *J Leukoc Biol.* 2007 Aug;82(2):335-46.
49. Mausner-Fainberg K, Luboshits G, Mor A, Maysel-Auslender S, Rubinstein A, Keren G, et al. The effect of HMG-CoA reductase inhibitors on naturally occurring CD4+CD25+ T cells. *Atherosclerosis.* 2008 Apr;197(2):829-39.
50. Mira E, León B, Barber DF, Jiménez-Baranda S, Goya I, Almonacid L, et al. Statins induce regulatory T cell recruitment via a CCL1 dependent pathway. *J Immunol.* 2008 Sep 1;181(5):3524-34.
51. Paintlia AS, Paintlia MK, Singh I, Singh AK. Combined medication of lovastatin with rolipram suppresses severity of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Exp Neurol.* 2008 Dec;214(2):168-80.
52. Mor A, Keren G, Kloog Y, George J. N-Ras or K-Ras inhibition increases the number and enhances the function of Foxp3 regulatory T cells. *Eur J Immunol.* 2008 Jun 38(6):1493-502.
53. Kim YC, Kim KK, Shevach EM. Simvastatin induces Foxp3+ T regulatory cells by modulation of transforming growth factor-beta signal transduction. *Immunology.* 2010 Aug;130(4):484-93.
54. Goldstein MR, Mascitelli L, Pezzetta F. Comment on "Local accumulation of FOXP3+ regulatory T cells: evidence for an immune evasion mechanism in patients with large condylomata acuminata". *J Immunol.* 2008 Oct 1;181(7):4433; author reply 4433-4.
55. Goldstein MR, Mascitelli L, Pezzetta F. Statins, Tregs and cancer. *Atherosclerosis.* 2008 Jan;196(1):483-4.
56. Polansky JK, Kretschmer K, Freyer J, Floess S, Garbe A, Baron U, et al. DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *Eur J Immunol.* 2008 Jun;38(6):1654-63.

