Sitagliptina, un inhibidor de la enzima DPP-IV, aumenta el colesterol plasmático total, altera el perfil de colesterol lipoproteico y disminuye el transporte reverso de colesterol en ratones

Andrea Leiva^{1,A,B}, Pablo Varas^{1,C}, Ludwig Amigo^{1,A}, Susana Contreras-Duarte^{1,D},
Alberto Maiz², Attilio Rigotti¹

Departamentos de ¹Gastroenterología y ²Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

ABioquímico/a; BPh.D en Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile; CInterno, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile; DBióloga.

Financiado por Proyecto FONDECYT No. 1070634

Recibido 20 de noviembre 2010 / Aceptado 13 de diciembre 2010

Rev Chil Cardiol 2010; 29: 342 - 350

Resumen:

Antecedentes: Las hormonas insulina y glucagón regulan la expresión de proteínas claves en el metabolismo lipídico. En pacientes diabéticos, la enfermedad cardiovascular aterosclerótica es la principal causa de muerte, siendo la dislipidemia un importante factor de riesgo patogénico. La sitagliptina, un inhibidor de la enzima dipeptidilpeptidasa tipo IV (DPP-IV) que controla el metabolismo de las incretinas, es una nueva droga hipoglucemiante utilizada para el tratamiento de la diabetes tipo 2, aunque sus implicancias en el metabolismo lipídico no han sido establecidas claramente.

Objetivo: Estudiar el efecto de la sitagliptina sobre algunos parámetros relacionados con el metabolismo del colesterol en el ratón.

Material y Métodos: Se utilizaron ratones C57BL/6/J silvestres, siendo un grupo alimentado con dieta estándar y el otro con dieta estándar suplementada con sitagliptina (0,6% P/P de dieta) por 8 semanas. La actividad plasmática de DPP-IV y el colesterol plasmático total y lipoproteico fueron medidos por métodos enzimáticos. La expresión hepática de SR-BI y LDLR se cuantificó por western blot. El transporte reverso de colesterol

(TRC) fue evaluado inyectando intraperitonealmente macrófagos cargados con colesterol-14C y midiendo posteriormente los niveles de 14C en plasma y deposiciones en los ratones controles o tratados con sitagliptina.

Resultados: La sitagliptina inhibió en un 38% la actividad de DPP-IV medida en plasma de los ratones. El colesterol plasmático aumentó significativamente (+60%) con una elevación preferente del colesterol HDL en los ratones tratados con sitagliptina versus los animales controles. Con respecto al TRC, la sitagliptina indujo una mayor recuperación (+20%) en el plasma y una menor excreción (-30%) en las deposiciones del 14C-colesterol inyectado versus el grupo control. Finalmente, la sitagliptina disminuyó la expresión hepática de los receptores lipoproteicos LDLR y SR-BI.

Conclusión: Estos resultados indican que la sitagliptina aumenta el colesterol plasmático total, predominantemente transportado en HDL, y disminuye el transporte reverso de colesterol y su excreción fecal, probablemente como consecuencia de la disminución en la expresión hepática de SR-BI. Dado el patrón proaterogénico observado, se requieren estudios adicionales para establecer el efecto de la sitagliptina sobre el desarrollo de aterosclerosis en el ratón.

Correspondencia:

Dr. Attilio Rigotti R.
Departamento de Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Marcoleta 367, Santiago, CHILE.
Fono: 56-2-3543832; Fax: 56-2-6397780;
Email: arigotti@med.puc.cl

Sitagliptine, an DPP-IV enzyme inhibitor, raises total cholesterol and decreases reversal cholesterol transport in mice

Background: Insulin and glucagon regulate the expression of key lipoprotein metabolism enzymes. Dyslipidemia is a significant risk factor for cardiovascular disease, the main cause of death in diabetic patients. Sitagliptine, an inhibitor of type IV dipeptidyl-peptidase (DPP-IV), controlling the metabolism of incretins, is a new hypoglycemic agent used for treatment of type II diabetes. Its effects on lipid metabolism are not clearly defined.

Aim: to study the effects of sitagliptine upon parameters of cholesterol metabolism in mice.

Methods: C5BL6/J mice were assigned to receive either a standard diet or one with sitagliptine supplementation (0.6% P/P) for 8 weeks. DPP-IV plasma, total and lipoprotein cholesterol were measured using enzyme methods. Reverse cholesterol transport was evaluated through the peritoneal injection of cholesterol loaded macrophages followed by measurement of plasma and

fecal¹⁴C labeled cholesterol.

Results: compared to controls, sitagliptine treated mice exhibited a 38% decrease in plasma DPP-IV. Total plasma cholesterol increased by 60% with a marked increase in HDL cholesterol. Also, an increased HDL cholesterol recovered from plasma along with a 30% decrease in fecal cholesterol was observed. Finally, sitagliptine administration was associated to a decreased LDL and SR-BI hepatic receptors.

Conclusion: Sitagliptine administration is associated to increased levels of plasma cholesterol, mainly the HDL fraction, and decreased reverse cholesterol transport and fecal excretion. This effects seem to be mediated by a decreased expression of SR-BI in the liver. The expected increase in atherosclerosis associated to the atherogenic changes induced by sitagliptine should be the subject for further studies in mice.

Key Words: Sitagliptine, cholesterol, mice.

Introducción:

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad de etiopatogenia heterogénea y compleja, caracterizada por trastornos en el metabolismo de glúcidos, proteínas y lípidos como resultado de defectos en la acción de la insulina¹. Las complicaciones isquémicas de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica son la principal causa de morbi-mortalidad en los pacientes diabéticos².

Las dislipidemias presentes en estos pacientes se asocian a alteraciones en la estructura, composición y funcionalidad de las lipoproteínas plasmáticas, presentándose un perfil lipídico potencialmente proaterogénico³. Así, se ha determinado que la presencia de cambios estructurales y metabólicos de las lipoproteínas de baja (LDL) y alta (HDL) densidad, así como de sus receptores expresados en la superficie celular, pueden modular el riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica asociado a la diabetes⁴.

El receptor de LDL (LDLR) es una proteína de membrana de alta expresión en el hígado y en el resto del organismo y su acción contempla la internalización completa de la partícula de LDL con posterior degradación intracelular a nivel lisosomal⁵. Por otro lado, el receptor de HDL conocido como scavenger clase B tipo I (SR-BI) es un receptor lipoproteico que media la captación

selectiva de colesterol desde las HDL plasmáticas hacia las células hepáticas, donde se expresa en altos niveles, estimulando su posterior secreción hacia la bilis. Así, la expresión hepática de SR-BI regula los niveles plasmáticos del colesterol HDL y el transporte reverso de colesterol (TRC) desde los tejidos periféricos, incluyendo la pared arterial, hacia el hígado para su excreción biliar y posterior eliminación fecal^{6,7}. A través de este último mecanismo, SR-BI protege contra la aterosclerosis y el desarrollo de la enfermedad coronaria isquémica en modelos animales⁷⁻⁹.

Diversos factores han sido reconocidos como reguladores de la expresión de los receptores lipoproteicos^{4,10-13}. Entre ellos, varios estudios han sugerido que los niveles de expresión proteica de SR-BI y también del LDLR pueden ser regulados por hormonas como la insulina, el glucagón y los glucocorticoides, las cuales son esenciales en el metabolismo de glúcidos, proteínas y lípidos¹⁴⁻¹⁹. Además de estos factores hormonales, las incretinas también modulan la homeostasis glucídica. Las incretinas son péptidos intestinales entre los que destaca el GLP-1 (glucagon like peptide-1), el cual se secreta en el estado postprandial y estimula la secreción de insulina e inhibe la secreción de glucagón en forma dependiente del nivel de la glicemia²⁰. De esta forma, GLP-1 se ha perfilado como un novedoso blanco terapéutico en pa-

cientes con DM2 evitando los episodios hipoglicémicos asociados a algunos tratamientos habituales de esta patología²⁰. Así, se han diseñado nuevos fármacos, como la sitagliptina²¹, que son capaces de aumentar la concentración plasmática de GLP-1 al inhibir la enzima DPP-IV (dipeptidyl peptidase-IV), el principal regulador fisiológico de GLP-1, mediante el control de su degradación e inactivación metabólica^{22, 23}. De hecho, la sitagliptina, droga autorizada para el tratamiento de DM2^{1,24-26}, produce un aumento en la concentración plasmática de GLP-1, reduce la hiperglicemia y disminuye los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c)^{23,27}.

Sin embargo, los efectos del tratamiento con sitagliptina sobre el metabolismo lipídico en general o particularmente sobre la homeostasis del colesterol corporal han sido escasamente estudiados²⁸⁻³⁰. Por esta razón y considerando lo trascendental que resulta el control de las dislipidemias en los pacientes con DM2, resulta interesante estudiar el posible efecto de este fármaco sobre el metabolismo del colesterol y los receptores lipoproteicos más importantes que controlan sus niveles plasmáticos. En este trabajo, reportamos los efectos de la sitagliptina sobre el metabolismo del colesterol lipoproteico en ratones silvestres alimentados con una dieta suplementada con esta droga. Mientras el uso de sitagliptina por tres semanas no modificó los niveles de colesterol plasmático total o lipoproteico, un tratamiento por ocho semanas determinó un aumento del colesterol plasmático total, preferentemente de la fracción de HDL, una significativa disminución del transporte reverso de colesterol desde la periferia hacia el hígado y las deposiciones y una reducción en la expresión de los receptores LDLR y SR-BI en el tejido hepático.

Material y Métodos:

Animales. Se utilizaron ratones machos de la cepa C57BL6/J de 2-3 meses de edad, los cuales fueron mantenidos en condiciones de luz, temperatura y humedad controlada y con libre acceso al agua y a la dieta estándar para roedores de laboratorio (Prolab RMH 3000) en el bioterio del Departamento de Gastroenterología de la Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Los estudios relacionados con este trabajo fueron aprobados por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la misma Escuela.

Administración de la Droga. Mientras un grupo control fue alimentado con la dieta estándar sin suplementación adicional, el grupo de animales tratados con sitagliptina fue alimentado con la misma dieta del grupo control

suplementada con 0,6% peso de sitagliptina (Januvia®, Merck Sharpe & Dohme)/peso de dieta. El tratamiento se realizó inicialmente por un período de tres semanas, y posteriormente, en un nuevo set experimental, este período se extendió por ocho semanas.

Evaluación del transporte reverso de colesterol. EL TRC fue evaluado en ambos grupos de ratones según la metodología publicada por Rader y cols¹². En breve, macrófagos de la línea celular J774 fueron cultivados por 40 h en un medio de cultivo que contenía 0,1 μ Ci/ml de colesterol marcado con carbono ¹⁴ (colesterol-14C). Luego de ser cosechadas, las células fueron lavadas e inyectadas intraperitonealmente 24 h antes del final del período de tratamiento con la sitagliptina. En seguida, se recolectaron deposiciones y plasma después de 24 h de la inyección para evaluar la presencia de colesterol marcado en ambos grupos experimentales. El colesterol presente en las deposiciones fue extraído utilizando un método de hidrólisis alcalina³¹ y posteriormente fue cuantificada la radioactividad de carbono 14 y la masa total de colesterol como se describe más adelante. El TRC se calculó como el porcentaje de marca radioactiva presente en el plasma y en las deposiciones con respecto a la marca radioactiva total inicialmente inyectada en los animales¹².

Obtención y procesamiento de muestras de plasma, bilis y tejido hepático. Al finalizar el tratamiento, los ratones fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital (4.5 mg/100 g de peso corporal). Posteriormente, se realizó una laparotomía abdominal y se procedió a canular la vesícula biliar para recolectar bilis por un período de 30 min evaluando el flujo biliar y la secreción biliar de colesterol. A continuación, la sangre venosa de cada animal fue extraída con una jeringa heparinizada. La sangre se centrifugó para remover las células sanguíneas y obtener el plasma. Finalmente, se extirpó el hígado y se congeló para el análisis posterior de la expresión de proteínas mediante western blot.

Análisis bioquímico del colesterol en plasma, bilis y deposiciones. Los niveles de colesterol plasmático total y lipoproteico, así como la concentración de colesterol en la bilis y deposiciones, se midieron a través de métodos enzimáticos estandarizados^{13,32}. Para la cuantificación del colesterol lipoproteico, las diferentes fracciones de lipoproteínas plasmáticas se separaron mediante cromatografía de exclusión molecular³³.

Determinación de la actividad de la enzima DPP-IV en el plasma. Para evaluar el efecto directo de la sitagliptina sobre su blanco farmacológico, se cuantificó la actividad de la enzima DPP-IV en el plasma de animales controles

y tratados a través de la conversión de Gly-Pro p-nitroanilida a p-nitroanilina. La formación de p-nitroanilina se midió espectrofotométricamente (390 nm) a distintos tiempos³⁴. La actividad del grupo tratado con sitagliptina se expresó en forma relativa a la actividad de los animales controles.

Western blot de SR-BI y del receptor de LDL en tejido hepático. Para realizar el análisis proteico mediante western blot, se prepararon membranas hepáticas totales a través de homogenización de muestras de hígado y ultracentrifugación del tejido hepático homogenizado^{13,33}. A continuación, las proteínas de los extractos de membranas hepáticas fueron separadas mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida y luego fueron transferidas desde el gel hacia una membrana de nitrocelulosa. En seguida, la membrana fue bloqueada con una solución salina tamponada con Tris (TBS) y suplementada con 5% leche descremada e incubada con el primer anticuerpo (anti-SR-BI, anti-LDLR o anti ϵ -COP, éste último como un control de carga proteica). Luego de sucesivos lavados con TBS-Tween 20, las membranas fueron incubadas con un segundo anticuerpo acoplado a peroxidasa para detectar la presencia de complejos antígeno-anticuerpo formados en la primera incubación. Finalmente, la presencia de estos complejos en la membrana fue revelada a través de una reacción de quimioluminiscencia y la señal fue cuantificada utilizando el programa ImageJ, normalizando las señales de SR-BI y LDLR en comparación con la señal de la proteína ϵ -COP como control de carga de proteína en cada carril del gel.

Análisis estadístico: La significancia estadística de las diferencias en los resultados promedios observados entre los grupos experimentales se estableció mediante el test t de Student. Un valor de $p < 0.05$ se consideró como punto de corte para establecer que una diferencia era estadísticamente significativa.

Resultados:

Con el objetivo de evaluar el efecto del tratamiento con sitagliptina sobre el metabolismo del colesterol en el ratón, animales de la cepa C57BL6/J fueron alimentados con una dieta que contenía 0,6% (peso/peso) de este hipoglicemiante. La primera administración se realizó por un período de tres semanas, lo que indujo una reducción en la actividad de la enzima DPP-IV en el plasma. Sin embargo, los niveles plasmáticos de colesterol total y la expresión de receptores de lipoproteínas no presentaron diferencias significativas entre el grupo de ratones tratados y los controles (datos no mostrados).

Figura 1: El tratamiento con sitagliptina por ocho semanas reduce la actividad de la enzima DPP-IV.

La actividad de la enzima fue evaluada en el plasma de los ratones luego de ocho semanas de tratamiento con dieta control y dieta con sitagliptina. La actividad fue determinada como la tasa de conversión del sustrato Gly-Pro p-nitroanilida a p-nitroanilina, la cual se detectó espectrofotométricamente a 390 nm. El doble asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa entre los ratones tratados y controles con un valor de $p < 0.005$.

La segunda aproximación experimental consistió en prolongar el tratamiento con sitagliptina por 8 semanas. Este tratamiento determinó una inhibición de un 38% en la actividad de la enzima DPP-IV cuando se comparó con los ratones controles (Figura 1). A diferencia del experimento a corto plazo, el uso más prolongado de sitagliptina generó un aumento de 60% en los niveles de colesterol plasmático total, el cual varió de 85 ± 13 mg/dL en los ratones controles a 136 ± 25 mg/dL en los animales tratados ($p < 0,05$) (Figura 2A). Este cambio en los niveles de colesterol total en el plasma se asoció con una reducción en los niveles de colesterol excretado en las deposiciones, el cual disminuyó en un 29% variando de 200 ± 58 ug/g peso corporal en los animales controles a 141 ± 48 ug/g peso en el grupo tratado ($p < 0,05$) (Figura 2B). Adicionalmente, la distribución del colesterol lipoproteico en el plasma de estos animales mostró que el aumento observado en el colesterol plasmático total correspondió principalmente a una elevación de los niveles de colesterol transportado en las lipoproteínas del tipo LDL y HDL (Figura 2C).

Para evaluar si los cambios observados en los niveles de colesterol plasmático y fecal fueron debidos a la regulación de la expresión proteica de receptores de lipoproteínas por la acción de sitagliptina, se analizaron los niveles de expresión hepática de los receptores de LDL y HDL por western blot. Como se observa en la Figura 3, ambos receptores presentaron una disminución cercana al 60% cuando se comparó la expresión en los ratones tratados con sitagliptina versus los animales controles.

Figura 2: El tratamiento con sitagliptina aumenta el colesterol plasmático total, principalmente en las fracciones de LDL y HDL, y reduce la excreción fecal de colesterol.

Los niveles de colesterol fueron evaluados en el plasma (A) y en el colesterol extraído de las deposiciones (B) de los ratones controles y tratados. Las determinaciones se realizaron de acuerdo a lo descrito en Materiales y Métodos. Las distintas fracciones de lipoproteínas plasmáticas (C) se separaron mediante cromatografía de exclusión molecular y el colesterol en cada una de ellas fue evaluado enzimáticamente. El asterisco único y el triple asterisco indican una diferencia estadísticamente significativa entre los ratones tratados y controles con un valor de $p < 0.05$ y $p < 0.001$, respectivamente.

La importancia de la expresión hepática del receptor SR-BI en el proceso de transporte reverso de colesterol desde los tejidos periféricos hacia las deposiciones a través de la bilis ha sido ampliamente estudiada^{4, 10, 12, 33}. Dado que los ratones tratados con sitagliptina presentaron una disminución en la expresión de SR-BI en el hígado, se analizó el TRC en estos ratones en comparación al grupo control (Figura 4) mediante la inyección intraperitoneal de macrófagos cargados con colesterol marcado radiactivamente. Para establecer la tasa de transporte de colesterol desde estos macrófagos hacia las deposiciones, primero se evaluó la marca radiactiva presente en el plasma de los

animales, la cual fue un 20% mayor en los ratones tratados con sitagliptina que en los controles (Figura 4A). En cuanto a la marca radiactiva presente en el colesterol extraído desde las deposiciones, este parámetro fue un 30% menor en los ratones tratados con la droga en relación a los niveles detectados en los ratones controles (Figura 4B).

Discusión:

Dado que la DM2 es una enfermedad que involucra principalmente el metabolismo glucídico, pero que tiene fuertes implicancias en el metabolismo lipídico, es im-

Figura 3: El tratamiento con sitagliptina reduce la expresión hepática de los receptores de LDL y de HDL SR-BI.

Los niveles proteicos de estos receptores lipoproteicos fueron evaluados por western blot en homogenizados de membranas celulares hepáticas totales. La cuantificación de la señal para cada receptor se realizó normalizando los niveles de expresión de cada uno de ellos por los valores obtenidos para el control de carga α -COP. El asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa entre los ratones tratados y controles con un valor de $p < 0.05$.

Figura 4: El tratamiento con sitagliptina reduce el transporte reverso de colesterol desde macrófagos periféricos hacia las deposiciones.

Los macrófagos fueron cargados con colesterol radioactivo (¹⁴C-Colesterol) *in vitro* y luego se inyectaron intraperitonealmente en los ratones. Luego de 24 horas, se analizó la presencia de la marca radiactiva en el plasma y en el colesterol extraído desde las deposiciones de los ratones controles y tratados. La radioactividad se indica como porcentaje del total de la marca inicialmente inyectada. El asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa entre los ratones tratados y controles con un valor de $p < 0.05$.

portante considerar los posibles efectos que ejercen las diferentes drogas antidiabéticas no solamente sobre el control de la glicemia, sino que también sobre el perfil lipídico y lipoproteico con la intención de mejorar no sólo la glicemia, sino también el inherente riesgo cardiovascular asociado a la presencia de dislipidemias.

En la actualidad, se utilizan diversos fármacos para el tratamiento de DM2, dentro de los cuales se encuentra la sitagliptina como miembro de la nueva clase de drogas pertenecientes a la familia de inhibidores de la enzima DPP-IV. Si bien se han desarrollado un amplio número de estudios que avalan la seguridad y eficacia de esta droga en el tratamiento de la hiperglicemia de pacientes con DM2, no se han realizado estudios enfocados a estudiar detalladamente el efecto de este medicamento sobre el metabolismo lipídico. Un trabajo reciente en pacientes, donde en forma paralela se evaluaron parámetros glicémicos y lipídicos, no detectó cambios en los niveles de colesterol plasmático²⁸. Otro estudio reportó un aumento leve, pero significativo, del colesterol LDL³⁰. Sin embargo, ambos trabajos fueron realizados después de 4 meses de terapia, sin reportarse datos a más largo plazo.

En el caso de modelos animales, no existen estudios dirigidos a evaluar el efecto directo de la sitagliptina sobre el metabolismo lipídico ni específicamente a nivel de la homeostasis del colesterol. Sin embargo, trabajos en ratas deficientes de DPP-IV demuestran que la inactivación de esta enzima protege contra el desarrollo de DM2, pero favorece la aparición de dislipidemias³⁵. Considerando esta evidencia, evaluamos los efectos de la sitagliptina sobre los lípidos plasmáticos usando el ratón como modelo de estudio, ya que existe evidencia que otros factores moduladores del metabolismo glucídico, como la insulina y el glucagón, modifican la homeostasis lipídica regulando la expresión de los receptores de lipoproteínas en diferentes tejidos¹⁴⁻¹⁹.

Este trabajo establece que la sitagliptina en el ratón aumenta el colesterol plasmático, predominantemente transportado en HDL y LDL, y disminuye la excreción de colesterol fecal, probablemente como consecuencia de la disminución en la expresión hepática de SR-BI y LDLR. El estudio de TRC demuestra que la sitagliptina induce una disminución en la eliminación corporal de colesterol transportado desde la periferia hacia el hí-

gado. Sin embargo, estos cambios no son apreciables a las tres semanas de tratamiento de los animales, sino luego de ocho semanas de administración del mismo. Esto sugiere que sería importante realizar estudios de seguimiento en pacientes tratados a más largo plazo con sitagliptina para poder establecer claramente si su uso crónico tiene algún impacto sobre los niveles de colesterol plasmático que pudiera repercutir en el desarrollo futuro de enfermedad coronaria.

Es ampliamente reconocida la estrecha correlación entre los niveles sanguíneos de colesterol LDL y el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria, riesgo que es inverso en relación los niveles de colesterol HDL plasmático³⁶. A su vez, estudios realizados en distintos modelos animales y en algunas series clínicas demuestran que no sólo son necesarios altos niveles de HDL para prevenir el desarrollo de aterosclerosis, sino más importante aún, estas lipoproteínas deben ser funcionales y que el transporte reverso de colesterol mediado por ellas sea óptimo^{9, 33, 37-39}.

En los animales tratados con sitagliptina, se observa un aumento significativo de los niveles de colesterol HDL. Sin embargo, este aumento se correlacionó con un menor transporte reverso de colesterol desde la periferia hacia las deposiciones, posiblemente como se señaló debido a los bajos niveles de expresión del re-

ceptor de HDL SR-BI en el hígado, lo que a su vez determinaría una acumulación de partículas de HDL de mayor tamaño y ricas en colesterol en los animales tratados con sitagliptina. Sin embargo, los resultados obtenidos en este modelo experimental, el cual no expresa la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CEPT), no pueden extrapolarse directamente a otras especies que si presentan actividad de esta enzima clave para la vía indirecta de transporte reverso de colesterol mediado por HDL.

Las características observadas en el perfil lipídico y el transporte reverso de colesterol en los ratones tratados con sitagliptina evidencian un eventual efecto proaterogénico que se correlacionó con menor expresión del receptor de HDL y LDLR en el hígado. En consecuencia, surge la necesidad de realizar estudios adicionales para establecer el efecto de la sitagliptina sobre el desarrollo de aterosclerosis en modelos de animales susceptibles de desarrollar esta enfermedad en ausencia y presencia de CETP⁴⁰⁻⁴². Paralelamente, estudios clínicos a largo plazo en humanos debieran establecer si el mejor control glicémico logrado con el uso de sitagliptina se asocia a menor incidencia de eventos cardiovasculares isquémicos o si induce una dislipidemia aterogénica que tenga un impacto negativo favoreciendo el desarrollo de aterosclerosis.

Referencias:

- Zarich SW. Antidiabetic agents and cardiovascular risk in type 2 diabetes. *Nat Rev Endocrinol*. 2009; 5: 500-506.
- Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998; 339: 229-234.
- Verges B. New insight into the pathophysiology of lipid abnormalities in type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. 2005; 31: 429-439.
- Rigotti A, Miettinen HE, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues. *Endocr Rev*. 2003; 24: 357-387.
- Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986; 232: 34-47.
- Krieger M, Kozarsky K. Influence of the HDL receptor SR-BI on atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 1999; 10: 491-497.
- Trigatti BL, Krieger M, Rigotti A. Influence of the HDL receptor SR-BI on lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 1732-1738.
- Braun A, Trigatti BL, Post MJ, Sato K, Simons M, Edelberg JM, et al. Loss of SR-BI expression leads to the early onset of occlusive atherosclerotic coronary artery disease, spontaneous myocardial infarctions, severe cardiac dysfunction, and premature death in apolipoprotein E-deficient mice. *Circ Res*. 2002; 90: 270-276.
- Trigatti B, Rayburn H, Vinals M, Braun A, Miettinen H, Penman M, et al. Influence of the high density lipoprotein receptor SR-BI on reproductive and cardiovascular pathophysiology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96: 9322-9327.
- Kozarsky KF, Donahee MH, Rigotti A, Iqbal SN, Edelman ER, Krieger M. Overexpression of the HDL receptor SR-BI alters plasma HDL and bile cholesterol levels. *Nature*. 1997; 387: 414-417.
- Mardones P, Quinones V, Amigo L, Moreno M, Miquel JF, Schwarz M, et al. Hepatic cholesterol and bile acid metabolism and intestinal cholesterol absorption in scavenger receptor class B type I-deficient mice. *J Lipid Res*. 2001; 42: 170-180.
- Zhang Y, Da Silva JR, Reilly M, Billheimer JT, Rothblat GH, Rader DJ. Hepatic expression of scavenger receptor class B type I (SR-BI) is a positive regulator of macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *J Clin Invest*. 2005; 115: 2870-2874.
- Mardones P, Pilon A, Bouly M, Duran D, Nishimoto T, Arai H, et al. Fibrates down-regulate hepatic scavenger receptor class B type I protein expression in mice. *J Biol Chem*. 2003; 278: 7884-7890.
- Rudling M, Angelin B. Stimulation of rat hepatic low density lipoprotein receptors by glucagon. Evidence of a novel regulatory mechanism in vivo. *J Clin Invest*. 1993; 91: 2796-2805.
- Shetty S, Eckhardt ER, Post SR, van der Westhuyzen DR. Phosphatidylinositol-3-kinase regulates scavenger receptor class B type I subcellular localization and selective lipid uptake in hepatocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26: 2125-2131.
- Nakamura T, Shibata N, Nishimoto-Shibata T, Feng D, Ikemoto M, et al. Regulation of SR-BI protein levels by phosphorylation of its associated protein, PDZK1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 13404-13409.
- Sporstol M, Mousavi SA, Eskild W, Roos N, Berg T. ABCA1, ABCG1 and SR-BI: hormonal regulation in primary rat hepatocytes and human cell lines. *BMC Mol Biol*. 2007; 8: 5.
- Arteaga A, Olmos P, Velasco N, Maiz A. Manual de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago; 1997.
- Droppelmann FC, Baeza C, Leiva A, Morales MG, Rigotti A. Efecto de la administración de triiodotironina y glucagón sobre la expresión hepática del receptor de lipoproteínas de alta densidad y el metabolismo del colesterol en el ratón. *Rev Chil Cardiol* 2007; 26: 6.
- Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab*. 2006; 3: 153-165.
- Kim D, Wang L, Beconi M, Eiermann GJ, Fisher MH, He H, et al. (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine: a potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem*. 2005; 48: 141-151.
- Kieffer TJ, McIntosh CH, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent insulintropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology*. 1995; 136: 3585-3596.
- Gallwitz B. Review of sitagliptin phosphate: a novel treatment for type 2 diabetes. *Vasc Health Risk Manag*. 2007; 3: 203-210.
- Wani JH, John-Kalarickal J, Fonseca VA. Dipeptidyl peptidase-4 as a new target of action for type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Cardiol Clin*. 2008; 26: 639-648.
- Lamont BJ, Drucker DJ. Differential antidiabetic efficacy of incretin agonists versus DPP-4 inhibition in high fat fed mice. *Diabetes*. 2008; 57: 190-198.

26. Mu J, Woods J, Zhou YP, Roy RS, Li Z, Zycband E, Feng Y, Zhu L, Li C, Howard AD, Moller DE, Thornberry NA, Zhang BB. Chronic inhibition of dipeptidyl peptidase-4 with a sitagliptin analog preserves pancreatic beta-cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2006; 55: 1695-1704.
27. Charbonnel B, Karasik A, Liu J, Wu M, Meininger G. Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin added to ongoing metformin therapy in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin alone. *Diabetes Care*. 2006; 29: 2638-2643.
28. Scott R, Loeys T, Davies MJ, Engel SS. Efficacy and safety of sitagliptin when added to ongoing metformin therapy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2008; 10: 959-969.
29. Rizzo M, Rizvi AA, Spinaz GA, Rini GB, Berneis K. Glucose lowering and anti-atherogenic effects of incretin-based therapies: GLP-1 analogues and DPP-4-inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009; 18: 1495-1503.
30. Rigby SP, Handelsman Y, Lai YL, Abby SL, Tao B, Jones MR. Effects of colesevelam HCl, rosiglitazone, or sitagliptin on glycemic control and the lipid profile in subjects with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin monotherapy. *Endocr Pract*. 2009; 1:34.
31. Schwarz M, Russell DW, Dietschy JM, Turley SD. Marked reduction in bile acid synthesis in cholesterol 7 α -hydroxylase-deficient mice does not lead to diminished tissue cholesterol turnover or to hypercholesterolemia. *J Lipid Res*. 1998; 39: 1833-1843.
32. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974; 20: 470-475.
33. Rigotti A, Trigatti BL, Penman M, Rayburn H, Herz J, Krieger M. A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger receptor class B type I reveals its key role in HDL metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94: 12610-12615.
34. Vlahovic P, Avramovic V, Stankovic M, Savic S, Todorovic M. Elevated serum dipeptidyl peptidase IV activity in patients with chronic tonsillitis. *Ann Clin Biochem*. 2007; 44: 70-74.
35. Kirino Y, Sato Y, Kamimoto T, Kawazoe K, Minakuchi K, Nakahori Y. Interrelationship of dipeptidyl peptidase IV (DPP4) with the development of diabetes, dyslipidaemia and nephropathy: a streptozotocin-induced model using wild-type and DPP4-deficient rats. *J Endocrinol*. 2009; 200: 53-61.
36. Rader DJ, Alexander ET, Weibel GL, Billheimer J, Rothblat GH. The role of reverse cholesterol transport in animals and humans and relationship to atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009; 50: S189-194.
37. Moore RE, Navab M, Millar JS, Zimetti F, Hama S, Rothblat GH, et al. Increased atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein A-I attributable to both impaired reverse cholesterol transport and increased inflammation. *Circ Res*. 2005; 97: 763-771.
38. Rader DJ, Alexander ET, Weibel GL, Billheimer J, Rothblat GH. Role of reverse cholesterol transport in animals and humans and relationship to atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009; 50: S189-94.
39. Alexander ET, Weibel GL, Joshi MR, Vedhachalam C, de la Llera-Moya M, Rothblat GH, et al. Macrophage reverse cholesterol transport in mice expressing ApoA-I Milano. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29: 1496-1501.
40. Kozarsky KF, Donahee MH, Glick JM, Krieger M, Rader DJ. Gene transfer and hepatic overexpression of the HDL receptor SR-BI reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed LDL receptor-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 721-727.
41. Arai T, Wang N, Bezouevski M, Welch C, Tall AR. Decreased atherosclerosis in heterozygous low density lipoprotein receptor-deficient mice expressing the scavenger receptor BI transgene. *J Biol Chem*. 1999; 274: 2366-2371.
42. Zhang S, Picard MH, Vasile E, Zhu Y, Raffai RL, Weisgraber KH, et al. Diet-induced occlusive coronary atherosclerosis, myocardial infarction, cardiac dysfunction, and premature death in scavenger receptor class B type I-deficient, hypomorphic apolipoprotein ER61 mice. *Circulation*. 2005; 111: 3457-3464.