

Participação do receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomos (PPAR- γ) na fisiopatologia da aterosclerose

Participation of the peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR- γ) in the atherosclerosis fisiopathology

SINOPSE

Doenças das artérias coronárias são a causa mais freqüente de morte em sociedades industrializadas. O entendimento detalhado dos eventos que ocorrem em nível molecular e celular, durante a formação da placa de aterosclerose, é um pré-requisito para o planejamento de uma estratégia racional para o tratamento desta doença. Nessa revisão, serão apresentadas evidências envolvendo o receptor nuclear gama ativado por proliferadores de peroxissomos – PPAR- γ – em uma série de reações que regulam a diferenciação e o metabolismo lipídico em monócitos, macrófagos e células musculares lisas da camada média vascular. PPAR-g é induzido nessas células pela exposição à LDL oxidada e é expresso em altos níveis nas células espumosas das lesões ateroscleróticas. Além disso, a ativação dos ligantes deste receptor leva à indução transcricional de um receptor de varredura (*scavenger*), o CD 36. Esse receptor possibilita aos monócitos em cultura a habilidade de ligar e internalizar LDL oxidada. Assim, esses resultados sugerem um inesperado envolvimento do PPAR- γ no desenvolvimento da lesão aterosclerótica.

UNITERMOS: Aterosclerose, Endotélio, LDL Oxidada, Receptores de Varredura, Monócitos, Macrófagos, Células Musculares Lisas, Células Espumosas, PPAR- γ .

ABSTRACT

Coronary artery disease is the leading cause of death in industrialized societies. A detailed understanding of the molecular and cellular events that underlie the formation of the atherosclerotic plaque is a prerequisite to the rational design of therapeutics for this disease. In this review, it is going to be presented evidences implicating the peroxisome proliferator activated nuclear receptor gamma – PPAR- γ – in a novel signaling pathway that regulates differentiation and lipid metabolism in monocytes, macrophages, smooth muscle cells from the vascular endothelium. PPAR- γ is induced in these cells by exposure to oxLDL and is expressed at high levels in the foam cells of atherosclerotic lesions. Moreover, ligand activation of this receptor leads to the transcriptional induction of the scavenger receptor, the CD 36. This receptor endows cultured monocytes with the ability to bind and internalize oxLDL. Altogether, these results suggest that PPAR- γ may play an unexpected role in the development of the atherosclerotic lesion.

KEY WORDS: Atherosclerosis, Endothelium, Oxidized LDL, Scavenger Receptors, Monocyte, Macrophages, Smooth Muscle Cells, Foam Cells, PPAR- γ .

INTRODUÇÃO

A aterosclerose é a causa mais comum de doença cardíaca e vascular, considerando-se dados obtidos a partir de pesquisas realizadas em países desenvolvidos (1).

A palavra ateroma foi criada por Celsius, há dois mil anos, para desig-

nar o que ele observou como sendo um “tumor gorduroso”. Tal denominação fora mantida até a metade do século XIX quando, com o estudo do enrijecimento vascular, teve seu significado ampliado para o termo arteriosclerose. Atualmente, entretanto, tem-se preferido a palavra aterosclerose por tratar-se de uma designação mais global e que

PAULO IVO HOMEM DE BITTEN-COURT JÚNIOR – Professor do Departamento de Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Doutor em Fisiologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP).
GUSTAVO PERETTI RODINI – Acadêmico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

EDSON SCORTEGAGNA PICCOLI – Acadêmico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

CAROLINE RECH – Acadêmica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

CRISTINA RITTER MÄDCHÉ – Acadêmica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

MAURÍCIO ESTRELA DA CUNHA – Acadêmico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

RÉGIS RENOSTO – Acadêmico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Instituto de Ciências Básicas da Saúde; Departamento de Fisiologia.

✉ Endereço para correspondência:

Edson Scortegagna Piccoli

Rua Ramiro Barcelos, 2221/41 – Bom Fim
90035-007 – Porto Alegre – RS – Brasil

☎ (51)3330-1747 – (51)9105-3604

✉ epiccoli@zaz.com.br

envolve tanto a formação do ateroma como a rigidez progressiva da parede arterial. As palavras arteriosclerose e ateroma restringem-se, deste então, à descrição das mudanças anatômicas nas artérias lesadas (2).

O presente trabalho tem por objetivo promover uma revisão bibliográfica acerca da lesão aterosclerótica e dos fatores relacionados com sua formação e agravamento. Assim, propõem-se correlacionar essa patologia com as últimas linhas de pesquisa que tentam esclarecer alguns de seus mecanismos fisiopatológicos ainda obscuros.

Atualmente, pressupõe-se que anormalidades do metabolismo lipídico de-

vam estar envolvidas com os processos bioquímicos e, conseqüentemente, clínicos da aterosclerose. Esse envolvimento vem sendo desvendado através da caracterização de um receptor nuclear: o PPAR- γ . Evidências sugerem que ele pode estar relacionado com a proliferação da placa aterosclerótica por promover a transcrição de RNAs que codificam receptores de superfície específicos para lipoproteínas, possibilitando, desse modo, um maior aporte de lípidos locais onde a placa de aterosclerose está se desenvolvendo.

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs) são membros de uma superfamília de receptores nucleares que podem ter sua ação desencadeada por vários xenobióticos e fatores de transcrição naturais que regulam genes envolvidos com o metabolismo lipídico e com a diferenciação de adipócitos. Em numerosos tipos celulares, os PPARs são co-expressos com seus níveis relativos variando de um local para outro (3). Três tipos de PPARs, a saber, PPAR- α , PPAR- β e PPAR- γ , formam uma subfamília dentro da família de genes de receptores nucleares de hormônios (4). O PPAR- α é altamente ativo em hepatócitos, cardiomiócitos, enterócitos e nas células do túbulo proximal do rim. O PPAR- β é expresso, geralmente, em diversos tecidos com níveis mais elevados do que o PPAR- α e o PPAR- γ , sendo que este último aparece predominantemente em células do tecido adiposo e do sistema imunológico (3). A disponibilidade de ligantes e ativadores para o PPAR- α e o PPAR- γ permitiram um acesso inicial a suas respectivas funções: regulação do metabolismo da glicose e de lípidos, diferenciação de adipócitos, responsividade inflamatória e homeostasia energética. Enquanto o PPAR- α parece mediar seus efeitos principalmente através da oxidação lipídica, o PPAR- γ exerce um papel chave no armazenamento de lípidos. Espera-se que os próximos anos sejam bastante promissores, já que estudos adicionais irão refinar nossos conhecimentos

sobre os PPAR- α e γ , assim como revelar um papel e um ligante para o último dos PPARs ainda órfão, o PPAR- δ (4).

A clonagem parcial por DNAC do PPAR- γ humano permitiu a mensuração de duas variantes: o PPAR- γ 1 e o PPAR- γ 2. Tanto os RNAs do γ 1 quanto os do γ 2 são abundantemente expressos no tecido adiposo. O PPAR- γ 1 foi detectado em baixos níveis no fígado e no coração, ao passo que os RNAs do γ 1 e γ 2 são expressos em baixos níveis no músculo esquelético (5). A expressão em adipócitos do RNAm do PPAR- γ 2 está elevada na obesidade humana; aumento este que é observado igualmente em homens e em mulheres (5). Sabendo ainda que o PPAR- γ 2 é mais expresso em células do sistema imunológico (além de seu já referido envolvimento na diferenciação de adipócitos e armazenamento de lípidos), podemos deduzir que é este, especificamente, que se relaciona com o desenvolvimento da lesão aterosclerótica (5, 6).

A TEROSCLEROSE

Conceituação

A aterosclerose é um processo degenerativo complexo que consiste no espessamento e endurecimento das artérias de grande e médio calibre, em conseqüência a uma resposta inflamatória crônica do endotélio destes vasos a determinadas formas de injúria. As lesões ateroscleróticas ocorrem nas camadas interna (íntima) e média das artérias e limitam-se a estas regiões. Estas lesões provocam o estreitamento da luz arterial, podendo tornar-se suficientemente amplas a ponto de levar à oclusão da artéria, com a conseqüente diminuição do suprimento sanguíneo para os tecidos ou órgãos distais à lesão. A aterosclerose é responsável pela maioria dos casos de infarto agudo do miocárdio e cerebral que, juntos, constituem a principal causa de morte em países desenvolvidos (1).

Fatores de risco para a aterosclerose

Dentre todos os fatores que predis põem ao desenvolvimento da aterosclerose, os principais são: hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, sedentarismo, obesidade, hiperlipidemia, estresse, diabetes mellitus e idade avançada. As mulheres, após a menopausa, apresentam risco aumentado de desenvolver a doença, devido ao decréscimo em seus níveis de estrogênio endógeno.

Patogênese

Os ateromas são, inicialmente, focais e aleatoriamente distribuídos, mas, à medida que a doença se desenvolve, estes focos se tornam mais numerosos, de modo a ocluir completamente a circunferência do vaso atingido. Nas artérias menores, os ateromas tendem a ser obstrutivos; já nos vasos de grande calibre, a doença tem caráter destrutivo, uma vez que, nestes, o ateroma tende a se romper e levar à formação de trombos, os quais, posteriormente, irão obstruir a passagem do sangue (1).

Uma das hipóteses para a formação da placa aterosclerótica reside na seqüência de eventos desencadeados pela hiperlipidemia, mecanismo esse que será especificamente abordado nessa revisão.

Há evidências de que níveis cronicamente aumentados de colesterol alteram a proporção lipídica da membrana plasmática das células endoteliais. Ocorre aumento da viscosidade e diminuição da fluidez destas, tornando-as, portanto, mais vulneráveis ao trauma provocado pelas alterações do fluxo sanguíneo – supõem-se que o fluxo turbulento cause áreas focais de disfunção endotelial, predispondo ao desenvolvimento de lesões nesses sítios. Tem-se observado que as artérias elásticas (aorta, carótida, ilíacas) e artérias musculares de grande e médio calibre (coronárias e poplíteas) são os locais mais freqüentemente atingidos, o que está associado, como referido, ao fluxo turbilhonar de sangue nesses terri-

tórios. Na verdade, as lesões inicialmente se desenvolvem em pontos morfológicamente intactos do endotélio e esse aumento de permeabilidade é diretamente acompanhado pelo aumento da adesão de leucócitos e alterações na expressão de genes próprios das células endoteliais. Tais genes são responsáveis pela expressão de moléculas de adesão no endotélio, como a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1 *intercellular adhesion molecule-1*) e, especialmente, moléculas de adesão de células vasculares (VCAM-1 *vascular cell adhesion molecule-1*). Elas são expressas no lume do vaso, mediando a adesão de monócitos e linfócitos circulantes durante sua entrada na placa. Essas alterações são mais evidenciadas nas bifurcações e ramificações das artérias (1).

Evidências apontam que a disfunção endotelial na aterosclerose parece ser desencadeada por endotoxinas, hipóxia, produtos derivados do tabagismo, toxinas específicas do endotélio (como a homocisteína) e, possivelmente, vírus ou outros agentes infecciosos (1).

Quando a região endotelial é danificada, monócitos e linfócitos migram por entre as células endoteliais, passando a se localizar no subendotélio. Os monócitos se diferenciam em macrófagos, os quais podem proliferar e acumular colesterol e ésteres de colesterol de lipoproteínas modificadas (principalmente LDL oxidada) que contêm apoproteína B-100 – VLDL, IDL e LDL –, dando origem às chamadas células espumosas (7, 8). A hipercolesterolemia ainda pode debilitar a função endotelial, pois é capaz de proporcionar um aumento da produção de superóxidos e outros radicais livres que ativam a formação de óxido nítrico – fator de relaxamento vascular, cuja relevância para o desenvolvimento da doença está sendo estudada. O estresse oxidativo também ativa o NF- κ B (fator de proliferação celular), assim como a produção de proteínas como as citadas anteriormente (molécula de adesão intercelular – 1 e molécula de adesão vascular – 1).

A modificação oxidativa dos lípidos, por radicais livres e espécies ativas de oxigênio, é o que leva à formação de LDL oxidada (LDLox), a qual é rapidamente captada por macrófagos através de receptores chamados de varredura. Esses receptores não são os mesmos para a molécula nativa de LDL e caracterizam-se por serem os principais responsáveis pela formação das células espumosas. Além disso, a LDLox é quimiotática para monócitos circulantes; aumenta a adesão dos monócitos através da tradução das moléculas endoteliais de adesão; inibe a mobilidade dos macrófagos, favorecendo o recrutamento e a sua retenção em placas; estimula a liberação de fatores de crescimento e citocinas; é citotóxica para células endoteliais e células musculares lisas e é imunogênica, levando à produção de anticorpos contra a LDLox. Estudos comprovando a proteção do endotélio por vitaminas antioxidantes, como betacaroteno e vitamina E, e por drogas que inibem a geração de oxidantes sugerem o fato de a hiperlipidemia levar à lesão através do estresse oxidativo no endotélio (1).

Os macrófagos também produzem interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF), responsáveis por aumentar a adesão de outros leucócitos. As espécies tóxicas de oxigênio, que também causam a oxidação da LDL ainda induzem a produção de fatores de crescimento que podem contribuir para a proliferação das células musculares lisas da camada média vascular. Essas migram para a íntima, onde proliferam e também tornam-se aptas a internalizarem lípidos, transformando-se em células espumosas. As células musculares lisas, assim como os macrófagos, apresentam receptores de varredura de alta afinidade para apoproteínas B presentes na superfície das lipoproteínas, levando, então, ao acúmulo de lípidos (1).

Todos esses fatores levam ao agrupamento de células espumosas nas camadas íntima e média, resultando na visualização macroscópica das estrias gordurosas (*fatty streaks*), características de lesões ateroscleróticas (1).

Se os fatores incitantes persistirem (hipercolesterolemia ou outros), a proliferação das células musculares lisas e a deposição de matriz extracelular (colágeno) na íntima e média irão converter as estrias gordurosas em ateromas fibrogordurosos. O próprio dano endotelial, por sua vez, pode ocasionar a exposição do tecido subendotelial a concentrações aumentadas de constituintes do plasma que facilitam a adesão de plaquetas. As plaquetas produzem tromboxane A2 (substância vasoconstritora), ADP (quimiotático para plaquetas) e fatores de crescimento (como o PDGF – *platelet-derived growth factor* – fator de crescimento derivado de plaquetas), responsáveis por levar à proliferação das células musculares lisas da camada média (1).

São também considerados fatores proliferativos das células musculares lisas, além do fator de crescimento derivado de plaquetas, o FGF (fator de crescimento de fibroblastos) e o TGF- α (fator de crescimento transformante α). Como fatores inibitórios, temos moléculas do tipo heparina e o TGF- β (fator de crescimento transformante β) (1).

A seqüência de eventos desencadeantes da lesão aterosclerótica pode ser revisada, esquematicamente, na Figura 1.

A SPECTOS DO METABOLISMO DE LÍPIDES

A gordura absorvida na dieta e os lípides sintetizados pelo fígado e tecido adiposo devem ser transportados para os vários tecidos e órgãos, para sua utilização e armazenamento. Uma vez que os lípidos são insolúveis na água, surge o problema de como transportá-los em um ambiente aquoso – o plasma sanguíneo. Isso é solucionado pela associação de lípidos não polares (trigliceróis e ésteres de colesterol) com lípidos anfipáticos (fosfolípidos e colesterol) e proteínas, resultando em lipoproteínas miscíveis na água (7, 8, 9).

Os lípidos necessários para a homeostase são, na maioria das vezes,

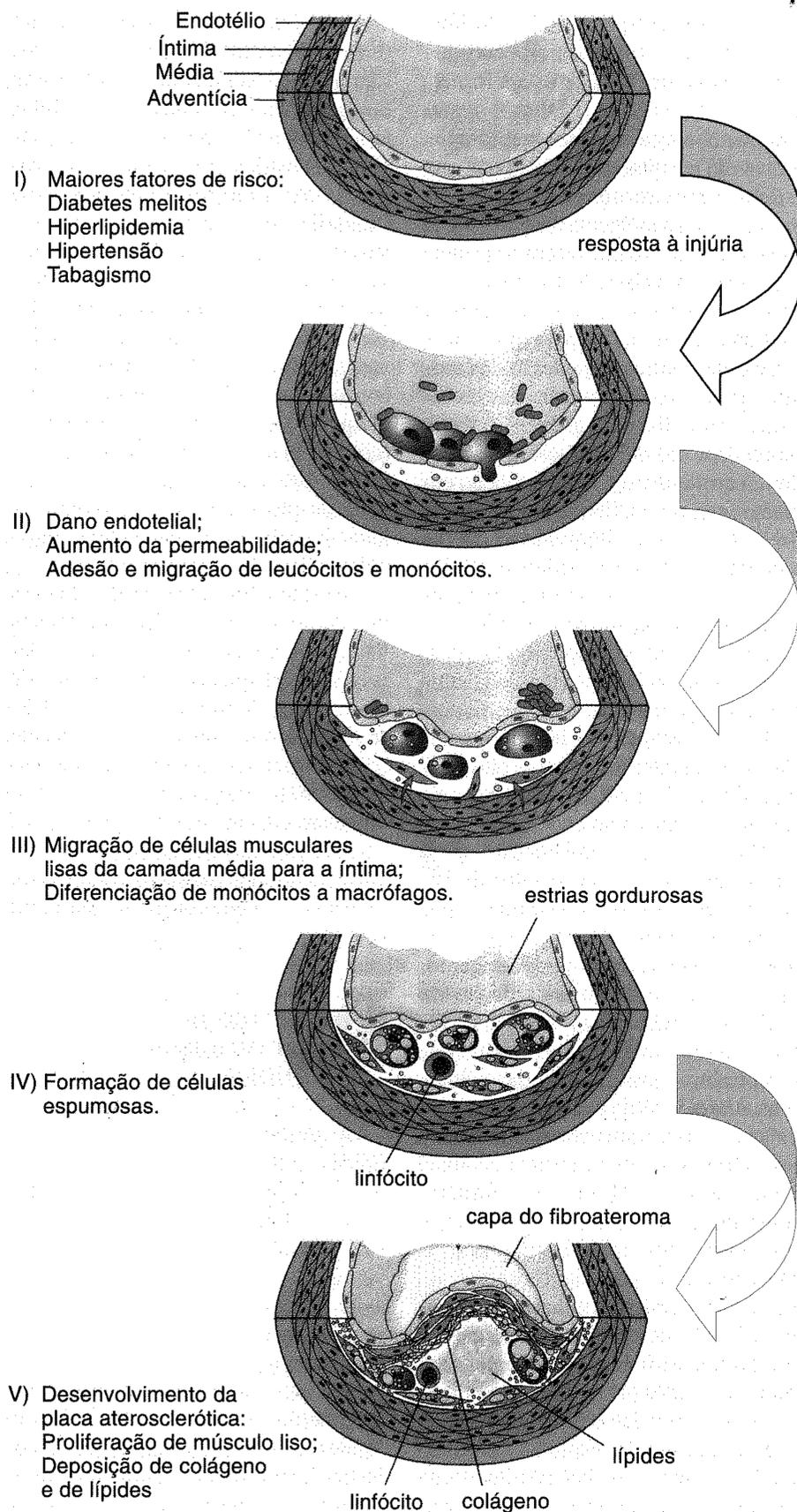


Figura 1 – Formação da Placa Aterosclerótica (1).

ingeridos na alimentação. Muitos desses podem ser sintetizados também a partir do metabolismo próprio do ser humano. Entretanto, alguns lípidos são considerados nutricionalmente essenciais e devem ser necessariamente providos a partir de fontes alimentares, uma vez que não podem ser sintetizados pelo organismo.

Foram reconhecidos dois ácidos graxos poliinsaturados como sendo essenciais na alimentação, ao menos de alguns animais, inclusive do homem: o ácido linoléico (ômega 6) e o ácido alfa linolênico (ômega 3). Um terceiro ácido considerado essencial é o ácido araquidônico, que pode ser formado a partir do ácido linoléico. A principal função desses grupos consiste em servir como precursores de leucotrienos, lipoxinas, prostaglandinas e tromboxanes (9).

Apesar de os lípidos fornecerem parte significativa da energia requerida pelos processos metabólicos do organismo, não constitui esta a única de suas funções. Eles são, por exemplo, constituintes essenciais da membrana plasmática das células e são, também, substratos para a formação de hormônios esteróides. Os lípidos servem, ainda, como veículo alimentar para as vitaminas lipossolúveis e fornecem os ácidos graxos poliinsaturados essenciais que o organismo é incapaz de sintetizar (7, 9).

Tipos de lipoproteínas e sua função

Existem quatro grupos principais e outros tantos subgrupos de lipoproteínas plasmáticas. Dentre as principais estão: quilomicra, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). Como exemplo dos subgrupos de lipoproteínas estão as quilomicra remanescentes e as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL). Os constituintes essenciais das mesmas são triglicerídeos, colesterol, ésteres de colesterol, fosfolípidos e proteínas. A contribuição relativa de cada uma dessas substâncias para a composição de cada tipo de lipoproteína pode ser analisada a partir da Tabela 1 (9, 10).

Tabela 1 – Composição das lipoproteínas do plasma humano

Fração	Densidade	Proteínas (%)	Total Lipídes (%)	Triacilgliceróis	Fosfolipídeos	Ésteres de colesterol	Colesterol livre	Ácidos graxos livres
Quilo-micra	<0,95	1-2	98-99	88	8	3	1	...
VLDL	0,95-1,006	7-10	90-93	56	20	15	8	1
IDL	1,019-1,063	11	89	29	26	34	9	1
LDL	1,063-1,125	21	79	13	28	48	10	1
HDL	1,125-1,210	33	67	16	43	31	10	...

Colesterol, triglicerídios e fosfolípidos da dieta são absorvidos pelo intestino e empacotados em grandes lipoproteínas de 80 a 500 nm chamadas de quilomicra. Como todas as lipoproteínas, as quilomicra são um complexo de proteínas e lípidos. A porção proteica das lipoproteínas é chamada de apolipoproteína ou apoproteína. As quilomicra contêm elevada relação de triglicerídios/colesterol. Essas são secretadas no sangue, principalmente via ducto torácico, para serem entregues aos tecidos; essa é a chamada rota de transporte de lípidos exógenos, uma vez que provêm de fora do organismo (7).

As quilomicra circulantes são metabolizadas pela lipase lipoprotéica dos tecidos, os quais reconhecem a apo A I, apo A IV e apo B-48. Essa enzima hidrolisa os triglicerídios a ácidos graxos livres e glicerol, os quais podem ser absorvidos pelas células. Os triglicerídios que não são imediatamente hidrolisados por essa enzima continuam nas quilomicra, formando as quilomicra remanescentes, que, por sua vez, são levadas ao fígado onde sofrem reciclagem por reconhecimento das apo B-48 e apo E (7).

Lípidos que são entregues ao fígado via quilomicra remanescentes são digeridos por enzimas e reaproveitados em novas lipoproteínas. Além disso, o fígado sintetiza lípidos por via *de novo*. Esses são combinados com apoproteínas hepáticas e secretados no sangue como lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Os receptores periféricos dos tecidos reconhecem, para fins de internalização, no caso desta lipoproteína, os constituintes proteicos apo C I, C II e C III, apo E e apo B-100 (7). Além disso, mais uma vez, da ação da li-

pase lipoprotéica sobre os triglicerídios (após ativação pela apo C II) ocorre a formação de VLDL remanescente. Parte dessas, por sua vez, são recaptadas e degradadas pelo fígado. As restantes são submetidas à contínua ação de lipases e, assim, convertidas a lipoproteínas de densidade intermediária e lipoproteínas de baixa densidade. Uma fração significativa da IDL e LDL é, novamente, absorvida e metabolizada pelo fígado. Entretanto, em torno de 60% da LDL são internalizados pelas células da periferia e, desse modo, utilizados. A entrega de colesterol e triglicerídios na forma de VLDL e LDL para tecidos extra-hepáticos pela corrente sanguínea é a chamada rota de transporte de lípidos endógenos, porque a VLDL é produzida endogenamente (7). As rotas das lipoproteínas acima descritas podem ser visualizadas na Figura 2.

Virtualmente, todos os tecidos podem sintetizar colesterol por via *de novo*, mas a LDL é a principal fonte de colesterol do organismo. Ela é captada pela célula via endocitose mediada por receptor. O número de receptores na superfície celular é regulado pela necessidade intracelular de LDL, como será posteriormente abordado. Os receptores de LDL reconhecem duas apolipoproteínas: a apo B-100 e a apo-E, presentes na superfície externa da LDL (8). Caso ocorra excesso de colesterol intracelular a partir da captação e metabolização da LDL, esse aumento inativa a HMG-CoA redutase (uma enzima limitante da síntese intracelular de colesterol), além de estimular a acilCoA:colesterol-aciltransferase (*acil CoA:cholesterol acyltransferase* – ACAT). Quando essa enzima é ativa-

da, o excesso do contingente de colesterol é esterificado a ésteres de colesterol e armazenado em nível celular. A ACAT também tem um importante papel na supressão do receptor de colesterol (7).

Em circunstâncias normais, ocorre acúmulo de colesterol na membrana das células de tecidos extra-hepáticos (11). Este excesso pode retornar ao fígado via lipoproteínas de alta densidade em um processo chamado de transporte reverso de colesterol. Assim, o HDL retira o excesso de colesterol livre das células através da ligação com o receptor de apo A I presente nessas lipoproteínas (8). Esse processo é favorecido, como exposto na Figura 2, por uma enzima chamada lecitina-colesterol-aciltransferase (*lecithin-cholesterol acyltransferase* – LCAT), que converte colesterol em éster de colesterol. Devido a isso, a LCAT também tem um importante papel na manutenção do gradiente de difusão do colesterol das membranas celulares para a HDL plasmática (7). O sistema HDL/LCAT, à parte da breve fase de absorção intestinal, constitui a mais importante fonte de ésteres de colesterol para as células do organismo (10). Os ésteres de colesterol podem ser transferidos da HDL para a VLDL pela ação da proteína de transferência de éster de colesterol (*cholesterol ester transfer protein* – CETP) (7). Portanto, as concentrações de HDL estão inversamente relacionadas à incidência de aterosclerose (9).

O excesso de colesterol hepático pode ser excretado na bile como sais biliares ou colesterol livre, onde pode sofrer reabsorção pelo intestino ou ser excretado nas fezes (7).

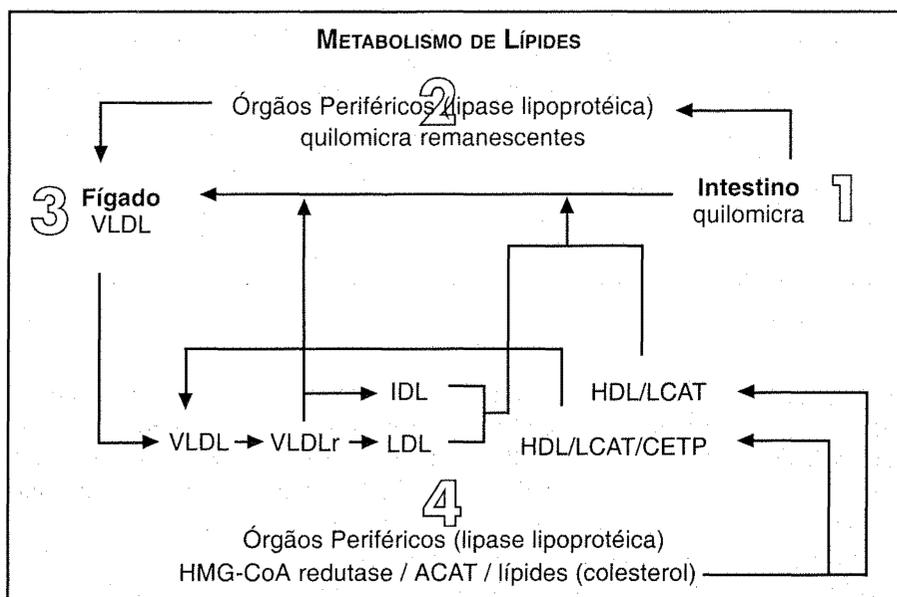


Figura 2 – Rotas das lipoproteínas no organismo e enzimas envolvidas no seu processo de metabolização.

R ECEPTORES DE SUPERFÍCIE PARA LDL NATIVA E LDL OXIDADA

O mais bem caracterizado receptor para lipoproteína é o receptor de LDL, o qual é capaz de reconhecer a apoproteína E (apo E) e a apoproteína B-100 (apo B-100), que são constituintes primários das LDL, VLDL, IDL e quilomicra remanescentes. Existem, entretanto, receptores específicos para lipoproteínas quando essas sofrem modificações. Exemplo importante desse grupo são os receptores de varredura encontrados em macrófagos, monócitos, plaquetas, tecido adiposo e epitélio mamário, específicos para LDLox (12).

Os receptores de varredura têm sido, recentemente, melhor caracterizados e divididos em subgrupos de acordo com sua constituição protéica. Entre eles, encontramos os SR-A I e II (*class A scavenger receptor I e II*), presentes estritamente em macrófagos e monócitos; e o SR-B (*class B scavenger receptor*), também conhecido como CD 36, localizado em macrófagos, monócitos, plaquetas, tecido adiposo e tecido mamário. Outros, como o CD 11, CD 14, CD 68 e CD 32, são expressos em diferentes linhagens celulares (12).

Os receptores de lipoproteínas nativas são suprimidos (*down-regulation*) ou superexpressos (*up-regulation*) de acordo com o meio a que estão submetidos.

Os receptores para LDL nativa situam-se em todas as células do organismo onde os ácidos graxos são utilizados como fonte principal de energia. Entretanto, vale lembrar que a captação de LDL por essas células não é proporcional aos níveis séricos do mesmo, mas sim à necessidade individual de cada célula. Assim, quando essas encontram-se suficientemente supridas de colesterol, ocorre supressão dos receptores de LDL nativa. O mecanismo desse fenômeno foi elucidado e sabe-se que envolve a enzima intracelular denominada ACAT. Essa, em vigência de altos níveis intracelulares de colesterol, faz com que a expressão de genes para a tradução de novos receptores seja suprimida. Além disso, há endocitose dos receptores já existentes e seu armazenamento para eventual reutilização (7).

O acúmulo de LDL no plasma expõe o mesmo a processos que envolvem danos oxidativos por agentes já previamente referidos. Esse acúmulo deve-se à incapacidade dos hepatóci-

tos em captar e metabolizar a LDL circulante (devido aos níveis séricos elevados) para que essa possa ser novamente reutilizada sob a forma de VLDL.

Os receptores de varredura específicos para LDLox não são suprimidos e, dessa forma, captam o excesso de LDLox formada (12). Na verdade, esses têm a peculiaridade de serem superexpressos, uma vez que a internalização da LDLox e a conseqüente metabolização da mesma (com a liberação de substâncias, as quais serão posteriormente abordadas) ativarão fatores de transcrição, em especial, o PPAR-g, que, através de mecanismos específicos, promoverão a formação de novos receptores de varredura.

R ECEPTOR GAMA ATIVADO POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMOS (PPAR-γ)

Receptores nucleares: uma superfamília

Progressos recentes na área da biologia molecular permitiram a clonagem e a identificação de uma classe de receptores pertencentes a uma mesma superfamília de proteínas e apresentando uma série de características comuns. Depois de mais de uma década de controvérsias, sabe-se hoje que esses sítios de ligação encontram-se primariamente no núcleo da célula, mesmo quando não acoplados a seus ligantes específicos (11). Podemos dizer que, pelo fato de esses receptores localizarem-se além da fronteira da membrana celular, é necessário que os seus ligantes apresentem uma estrutura lipofílica, pois só dessa forma poderão chegar a seus sítios de ligação. O complexo receptor-ligante, por sua vez, ligar-se-á a seqüências específicas no DNA (denominadas elementos responsivos a hormônios – HRE), a fim de exercerem a sua função fisiológica de regulação da expressão gênica (11).

Foi demonstrado que esses receptores se assemelham a muitos outros fatores de transcrição nuclear pelo fato

de também apresentarem vários domínios funcionais. Os estudos de diferentes regiões dessas estruturas permitiram a caracterização de quatro domínios funcionais: os domínios A e B, conhecidos por região N-terminal e que correspondem ao segmento mais variável entre os diferentes membros da família; o domínio C, responsável pela ligação desses receptores ao DNA; o domínio D, também chamado região em "dobradilha"; o domínio E, que se liga ao hormônio específico para aquele receptor (11).

Utilizando-se sondas de hibridização, foram identificadas diferentes classes, tipos e isoformas para esses receptores. Além disso, a presença de seqüências altamente conservadas entre esses receptores permitiu que eles fossem divididos em subgrupos de acordo com o grau de homologia entre eles. Criaram-se, então, três subfamílias: a de receptores de hormônios esteróides, a de receptores de hormônio tireoideano e de ácido retinóico e, finalmente, os receptores de vitamina D. Cada um desses tipos pode ainda apresentar diversas isoformas, decorrentes da utilização de diferentes promotores e/ou de diferentes sítios de fatiamento (*splicing*) do RNAm (11).

Ao analisar-se os receptores nucleares para o ácido retinóico, composto sintetizado a partir da vitamina A, identifica-se duas classes distintas. Essas são classificadas segundo diferenças em suas seqüências primárias de aminoácidos e de acordo com suas afinidades por dois isômeros naturais do ácido retinóico (RA) ligantes desse receptor: o isômero todo-trans do ácido retinóico (all-trans RA) e o isômero 9-cis RA. A primeira classe a ser clonada foi denominada receptores do ácido retinóico (RAR), que se ligam com alta afinidade tanto ao all-trans RA quanto ao 9-cis RA. A segunda classe só foi clonada mais recentemente e foi denominada receptores do retinóide "X" (RXR), sendo esta específica para o isômero 9-cis do ácido retinóico (11).

O ácido retinóico (forma ativa da vitamina A) está presente no plasma sanguíneo, onde é transportado ligado

à albumina. O fígado constitui o seu principal sítio de localização no organismo, sendo ali armazenado como um éster em lipócitos (células estreladas perissinusoidais), e provavelmente formando um complexo lipoglicoprotéico (8). Para que seja retransportado aos tecidos, o ácido retinóico necessita ser hidrolisado a retinol, a fim de permitir sua ligação à apoproteína ligante de retinol (RBP). A holoRBP resultante é, então, processada no aparelho de Golgi e, posteriormente, secretada para o plasma, onde será captada pelos tecidos via receptores celulares de superfície. No interior das células extra-hepáticas, o retinol liga-se a uma proteína celular chamada ligante de retinol (CRBP) de modo que, após a sua captação, ele se adere a proteínas nucleares, mais especificamente ao receptor RXR, tornando-se responsável pela expressão de determinados genes (8).

Os receptores podem, às vezes, se ligar aos seus respectivos elementos responsivos na forma de homodímeros, mas, na grande maioria dos casos, essa ligação se dá através de heterodímeros, onde um desses receptores, na presença de seu elemento responsivo, vai se combinar com um receptor diferente, geralmente um RXR. Após ligar-se com alta afinidade a esse, poderá exercer, finalmente, sua ação transcricional na presença de seu ligante específico (11). O receptor ativado por proliferadores de peroxissomos (PPAR-g) é um exemplo de receptor nuclear que forma, justamente, um complexo heterodimérico com o RXR, ligando-se ao DNA e atuando como regulador transcricional de genes envolvidos no metabolismo de lípidos e na diferenciação de monócitos (13).

PPAR- γ :RXR, sua ativação por ligantes e a conseqüente expressão de receptores de membrana:

Para provar a capacidade do heterodímero formado pelo PPAR-g e o RXR em promover a expressão de receptores de varredura para LDLox (o

CD 36), alguns experimentos, *in vitro*, foram realizados tendo como base o estudo da linhagem de células THP-1 da linhagem monocítica humana e de monócitos presentes no plasma sanguíneo (12, 14).

Foram utilizados ligantes específicos para o PPAR- γ (da família da prostaglandina J2 – PGJ2) e para o RXR (o LG268). Para que tais experimentos pudessem chegar a uma conclusão satisfatória, foram preparados três experimentos: Células + ligantes para RXR; Células + ligantes para o PPAR- γ ; Células + ligantes para o PPAR-g e para RXR (12, 14).

Como resultado unânime desses trabalhos, encontrou-se que ambos os ligantes atuando de forma isolada promoviam a expressão de receptores CD 36. Entretanto, comprovou-se, através de métodos de medidas específicas, que a atuação sinérgica de ambos os ligantes promovia a potencialização da transcrição do RNAm, a partir do genoma humano, com a conseqüente tradução de receptores de superfície do tipo CD 36 (12,14). Foi testada a atuação do heterodímero PPAR- γ e RXR na estimulação da formação de receptores de varredura do tipo SR-A, mas ficou estabelecido que os ligantes não promoviam a super-regulação desse tipo de receptor (12).

As observações de que a LDLox poderia ser ou carregar um ligante para o PPAR- γ e, conseqüentemente, promover a super-expressão do CD 36, basearam-se em observações acerca de fatos relacionados com a família da prostaglandina J2. Após descobrir-se que derivados de ácidos graxos, como a PGJ2, Δ^{12} PGJ2, 15deoxi $\Delta^{12,14}$ PGJ2 atuavam como ligantes do PPAR- γ , pressupôs-se que algum componente da LDL, quando oxidada, também poderia levar à ativação do referido fator de transcrição (14).

In vivo, como mostrado na Figura 3, o RXR parece estar constantemente ativado. Tal inferência parte do pressuposto de que o ligante para esse receptor esteja sempre presente no plasma, uma vez que se trata do ácido retinóico (forma ativa da vitamina A), cujo

nível sérico é controlado e mantido pelo fígado. Desse modo, a expressão dos receptores CD 36 fica limitada à ativação do PPAR- γ pelos seus ligantes específicos.

Mecanismo de ativação e ação do PPAR- γ através da rota envolvendo a LDL oxidada:

A hiperlipidemia, fator que desencadeia supressão de receptores para LDL nativa, é um dos principais fatores de risco para aterosclerose, pois ao promover a maior permanência da LDL na circulação, predispõe sua maior exposição a fatores oxidantes (12, 14). Não bastasse o fato da supressão ser um dos grandes responsáveis pelo acúmulo de LDL na circulação, existem, ainda, as conseqüências do desequilíbrio na relação LDL/HDL. Quando altos níveis dessa relação se fazem presentes, o respectivo desbalanço entre o influxo e o efluxo de LDL nativa nas células acaba denunciando tanto uma função insuficiente da HDL em levar os excessos de colesterol de volta ao fígado, quanto uma ineficiência hepática na metabolização da LDL que retorna a esse órgão (1,8,15). É importante notar que a função diminuída da HDL, assim como a deficiente metabolização hepática de lipoproteínas nessa situação, é devida ao fato de as demandas de LDL serem muito superiores à quantidade ideal para que se mantenha em nível satisfatório o equilíbrio entre o transporte dessas duas lipoproteínas. Não estamos lidando, portanto, com problemas estruturais ou de qualquer outra origem (embora estes não possam ser plenamente descartados) como, por exemplo, defeitos genéticos que porventura venham a debilitar a função máxima da HDL.

Com as observações empíricas de que a LDLox possuía a capacidade de ser internalizada somente em células que expressassem os receptores de varredura CD 36, era de se esperar que algum componente específico, inerente à constituição estrutural da própria LDLox, atuasse como o desencadeador de certas reações intracelulares (12, 14).

Essas reações seriam, então, responsáveis por levar à internalização dessas lipoproteínas modificadas proporcionalmente aos seus níveis séricos.

Como constituintes da partícula de LDL, temos, principalmente, ésteres de colesterol, seguidos por fosfolípidos, triacilgliceróis, colesterol livre e ácidos graxos livres (8). Cada um desses componentes lipídicos pode passar por reações de oxidação durante o processo de formação da LDLox, porém quase nenhum deles, direta ou indiretamente, parece desencadear os processos responsáveis pela observada resposta de superexpressão da síntese dos receptores CD 36 (14). Fazendo parte, entretanto, da classe dos ésteres de colesterol, temos o ácido araquidônico e o ácido linoléico (ácido graxo essencial na dieta). Esse último composto – oriundo do milho, amendoim, semente de algodão, soja e muitos óleos vegetais – obteve, nos experimentos realizados, níveis detectáveis de resposta transcricional para expressão de receptores CD 36 (8, 14). Porém, a ação do ácido linoléico *per se* como ativador do PPAR-g somente ocorre quando este estiver presente em altas concentrações

e, mesmo assim, as respostas observadas são sutis (14). A posterior constatação de que a clivagem (via processos oxidativos) de duas de suas ligações éster levarem à formação de dois metabólitos, a saber, o 9-HODE (ácido 9-hidroxi-octadecadienóico) e o 13-HODE (ácido 13-hidroxi-octadecadienóico), ressaltou em muito a importância desse ácido, já que esses compostos, especificamente, se mostraram potentes ativadores do PPAR- γ (14). Além disso, é oportuno ressaltar que estudos demonstraram ser o 9-HODE, em termos de resposta obtida, um ligante do PPAR- γ mais potente do que o 13-HODE (14).

Uma vez ocorrida a ligação da LDLox ao receptor de varredura CD 36, ocorre a internalização do complexo partícula/receptor, justificando a nomenclatura do processo como endocitose receptor-mediada (14). Quando presente no interior das células, a partícula de LDLox, ao invés de passar pelos processos celulares comuns de metabolização (sofrer internalização e posterior atuação de enzimas lisossômicas), será degradada por peroxissomos, promovendo a liberação do 9 e

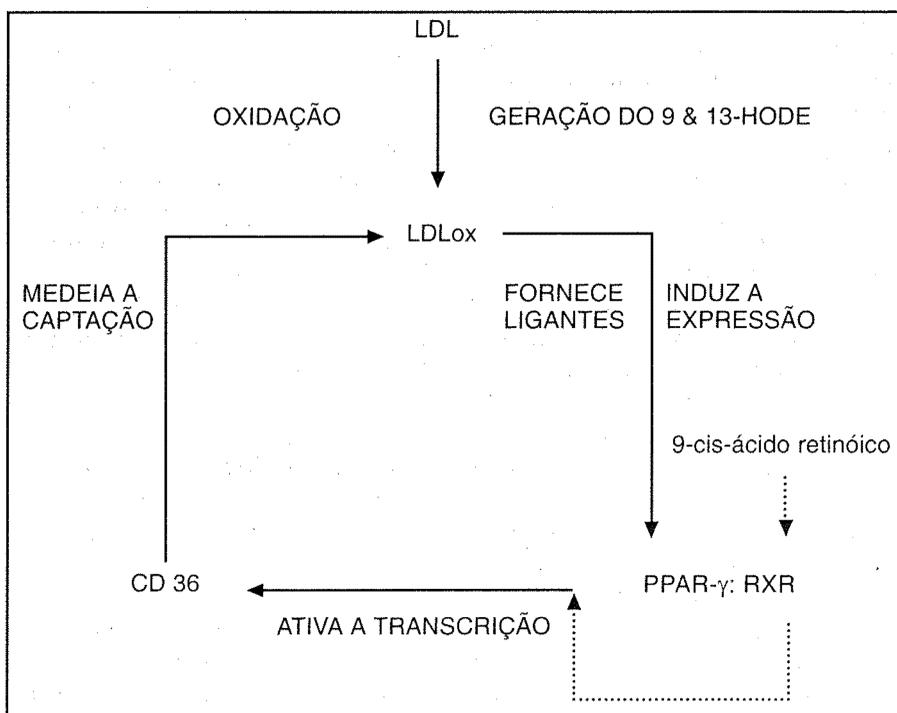


Figura 3 – Rota e consequência da ativação do PPAR- γ (14).

13 HODE de modo a ficarem esses livres para dirigirem-se a núcleo e ligarem-se ao PPAR- γ , como mostrado na rota esquemática da Figura 3. Todos esses achados indicam que os ligantes do PPAR- γ realmente devam estar confinados na partícula de LDLox e, portanto, não podem ser liberados em solução aquosa (14).

Ainda em relação aos peroxissomos, tratam-se de organelas esféricas, limitadas por membrana, que contêm enzimas próprias para a degradação de ácidos graxos, aminoácidos e outros substratos. O fato de os peroxissomos conterem enzimas que participam do metabolismo dos lípidos explica o porquê de a beta-oxidação lipídica ocorrer principalmente nessas estruturas (16). Supõem-se que a própria presença de agentes de proliferação das mesmas constitua um estímulo para a ativação do PPAR- γ , em resposta ao alto aporte de LDLox e sua necessidade de metabolização.

A rota proposta na Figura 3 indica que, uma vez ativado o PPAR- γ no núcleo da célula, haverá a conseqüente ativação da transcrição de genes envolvidos com o aumento da expressão da proteína de membrana que exercerá funções receptoras para LDLox, ou seja, do próprio receptor de varredura CD 36. Haverá, então, uma maior internalização de LDLox nas células que os expressam, com a posterior potencialização da formação das células espumosas (12, 14).

CONCLUSÃO

Fica claro, partindo-se da avaliação de trabalhos referentes à fisiopatologia da aterosclerose, que existem muitas dúvidas acerca de como a placa aterosclerótica é formada e desenvolvida. Novas evidências começaram a esclarecer estas incertezas, a partir da consideração da importância de fatores intrínsecos às células constituintes da placa de ateroma. Pressupunha-se, em alguns trabalhos (13, 14), que essas características estariam envolvidas com fatores transcricionais presentes em ní-

vel nuclear. Entretanto, ainda é escasso o desenvolvimento ou a correlação entre os fatores de transcrição e o progresso da aterosclerose. O fator de transcrição que atualmente parece estar mais relacionado com esse evento seria o PPAR-g. Mais uma vez, encontramos evidências para tal afirmação, porém, carecia-se de correlação imediata da influência que ele poderia exercer sobre a referida patologia.

É sabido que níveis elevados de colesterol na forma de lipoproteínas no plasma sanguíneo favorecem a formação da placa de aterosclerose. Ao mesmo tempo, evidenciou-se que esses níveis aumentados regulavam a expressão de proteínas traduzidas de RNAm que, por sua vez, haviam sido transcritas do genoma humano através da ativação do PPAR-g. Ainda em referência aos altos índices de LDL, descobriu-se que sua permanência no plasma favorecia a sua oxidação com a conseqüente formação de ligantes ativadores para o PPAR-g (9-HODE & 13-HODE). A importância desse fato reside na observação de que, apesar de o PPAR-g formar um complexo heterodimérico com o RXR, a etapa limitante do processo de formação dos receptores residia justamente na oxidação das referidas lipoproteínas, já que o ligante natural do RXR, o ácido retinóico (forma ativa da vitamina A), é abundante no plasma. A ativação do heterodímero facilita uma alça de retroalimentação (*feedback*) positiva direcionada à formação de receptores de varredura (especialmente o CD 36) para as lipoproteínas modificadas em excesso no plasma. Assim, percebeu-se que havia maior captação dessas lipoproteínas, principalmente em nível da camada média e íntima do vaso, o que favorecia o desenvolvimento da placa. No referido local, encontravam-se também monócitos que, após ativados a macrófagos, aumentavam a captação de lipoproteínas oxidadas, formando as células espumosas.

A literatura sugere que ácidos graxos poliinsaturados, incluindo-se nestes o ácido linoléico, favoreçam a re-

dução do colesterol plasmático por motivos ainda incertos. Essa condição é considerada benéfica, por exemplo, na prevenção de doença cardíaca coronariana (7, 8, 9). Entretanto, foi demonstrado nessa revisão, através da análise de inúmeros outros trabalhos (12, 14), que é justamente o ácido linoléico, a partir de sua oxidação, que fornece os metabólitos ativadores para o PPAR-g. Essa situação, contudo, somente é observada quando os níveis séricos de LDL e, conseqüentemente, do ácido linoléico, estão elevados. Isso sugere um efeito maléfico (no sentido de perpetuar o processo aterosclerótico) para o mesmo, já que ele é um dos constituintes essenciais da dieta e das lipoproteínas. Nesse contexto, fica evidente a importância profilática de controlar-se os altos níveis séricos de LDL, ou seja, a hipercolesterolemia.

Percebeu-se, ainda, que os receptores ativados pelo PPAR-g não eram suprimidos, mas, contrariamente, tinham sua expressão exacerbada pelos altos níveis de colesterol circulante. Esse fato, por acontecer em locais onde a formação da placa estava ocorrendo, favorecia a relação entre o PPAR-g e essa doença, que é uma das maiores causas de morte no mundo.

Deve-se, finalmente, traçar um paralelo entre possíveis alternativas terapêuticas e os conhecimentos que relacionam o PPAR-g à formação da placa aterosclerótica. Através do maior conhecimento de como ocorre a internalização de LDL a partir da indução do receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomos, pode-se começar a busca por medidas terapêuticas que visem à interrupção da ação do PPAR-g em algum ponto da rota por ele determinada. Elementos que antagonizem ou neutralizem a ação do PPAR-g poderão bloquear o aumento de receptores para lipoproteínas oxidadas e, conseqüentemente, impedir o acúmulo intracelular das mesmas. Desta forma, o desenvolvimento da lesão aterosclerótica poderia ser contido antes de se tornar um evento potencialmente fatal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SCHOEN FJ, COTRAN RS. Blood Vessels. In Cotran, R S. Kumar V. Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6 Ed. Philadelphia: Editora Saunders, 1999.
2. COTTET J, LENOIR M. Two thousand years of historical study on the words atheroma, atheromatosis, atherosclerosis, arteriosclerosis. Bull Acad Natl Med 1992; 176:9, 1385-90.
3. BRAISSANT O, FOUFELLE F, SCOTTO C, et al. Diferential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) distribution of PPAR-alpha, -beta and-gama in the adult rat. Endocrinology 1996; 137:1, 354-66.
4. SCHOONJANS K, MARTIN G, STAELS B et al. Peroxisome proliferator-activator receptors, orphans with ligands and functions. Curr Opin Lipidol 1997; 8:3 159-66.
5. VIDAL PAJ, CONSIDINE RV, JIMENEZ LM et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. J. Clin Invest 1997; 99:10, 2416-22.
6. ROBINSON CE WU X, MORRIS BC et al. DNA bending is induced by binding of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 heterodimer to its response element in the murine lipoprotein lipase promoter. Biochem Biophys Res Commun 1998; 244:3, 671-7.
7. MONTGOMERY R, CONWAY TW, SPECTOR AA. Biochemistry: a case oriented approach. 6 Ed. St. Louis: Editora Mosby, 1996.
8. MURRAY RK, GRANNER DK, MAYES PA et al. Harper: Bioquímica. 8 Ed. São Paulo: Editora Lange, 1998.
9. MARKS DB, MARKS AD, SMITH CM. Basic Medical Biochemistry – a clinical approach. Philadelphia: Editora Williams & Wilkins. 1996.
10. DESPOPOULOS A, SILBERNAGL S. Color atlas of Physiology. 4 Ed. New York: 1991.
11. AIRES MM. Fisiologia. 2 Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 1999.
12. TONTONZOZ P, ALVAREZ JGA, THOMAZY VA et al. PPAR-γ Promoters Monocyte/Macrophage Differentiation And Uptake Of Oxidized LDL. Cell 1998; 93,241-252.
13. DEVCHAND PR, KELLER H, PETERS JM et al. PPAR-a – leucotriene B4 pathway to inflammation control. Nature 1996; 384, 39-43.
14. NAGY L, TONTONZOZ P, ALVAREZ JGA et al. Oxidized LDL Regulates Macrophages Gene Expression through Ligand Activation of PPAR-g. Cell 1998; 93,229-240.
15. BROWN MS, GOLDSTEIN JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. Annu. Ver. Biochem. 1983; 52,223-261.
16. JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. Histologia Básica. 8 Ed São Paulo: Editora Guanabara e Koogan 1995.