

O papel dos PPARs nas Doenças Cardiovasculares

Aspectos patogênicos na aterosclerose e insuficiência cardíaca e suas implicações clínicas

Nadine Clausell*, Angela M. V. Tavares**

* Professora Adjunta – Faculdade de Medicina UFRGS – Coordenadora do Grupo de Insuficiência Cardíaca do HCPA

** Mestre em Fisiologia – Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS; Aluna de Doutorado do Programa de Pós-Graduação de Cardiologia e Doenças Cardiovasculares - UFRGS

O Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma (PPAR) é um fator de transcrição, pertencente à super família de receptores nucleares que se ligam a agonistas específicos, também conhecidos como ligantes ou ativadores de PPARs. Evidências crescentes têm demonstrado a importância dos PPARs no controle de diversos processos biológicos relacionados principalmente ao metabolismo lipídico e ao processo inflamatório, desempenhando papéis-chave em várias doenças cardiovasculares. Neste sentido, um elo que tem sido explorado, envolvendo a ação dos PPARs nessas doenças, é o efeito anti-inflamatório exercido por alguns ativadores de PPARs, como as glitazonas e os fibratos em modelos experimentais de aterosclerose e insuficiência cardíaca, com potenciais implicações no tratamento dessas doenças em seres humanos. Neste artigo, estaremos revisando, em maior profundidade, o papel dos PPARs, tanto na aterosclerose como na insuficiência cardíaca, enfatizando conceitos mecanísticos e suas potenciais aplicações clínicas.

Aspectos básicos celulares e moleculares dos PPARs

Enquanto os receptores da membrana plasmática ativam cascatas de segundos mensageiros, receptores nucleares são fatores de transcrição com função regulatória. Dentre estes fatores de transcrição, de modo mais específico aqueles que têm sua atividade regulada por ácidos graxos (AG), destacam-se os receptores nucleares ativados por proliferadores de peroxissomas (PPARs). Em 1990, Isseman e Green, pela primeira vez, constataram sua existência e assim os denominaram pelo fato de serem ativados por substâncias que induziam a proliferação dos peroxissomas (1). A função dos PPARs como fatores de transcrição é dependente do ligante (agonista): quando são ativados têm a capacidade de modular a expressão de genes por meio da ligação com o elemento responsivo ao PPAR (PPRE – “*Peroxisome Proliferator Response Element*”), localizado na região regulatória (promotora) dos genes que estão sob seu controle transcricional (2). Para uma efetiva transcrição por meio desta ligação, é necessário, ainda, um outro fator protéico, o receptor do ácido 9-*cis* retinóico (RXR) (3). Desta forma, os PPARs dimerizam-se com os RXR, formando um complexo capaz de se ligar ao PPRE (34). Estes são ativados em resposta a AG polinsaturados, dentre eles o ácido araquidônico, e seus metabólitos eicosanóides (prostaglandinas, tromboxinas, leucotrienos), tendo estes um papel chave no processo inflamatório e resposta imune, sendo caracterizados principalmente pela sua distribuição nos tecidos e a função metabólica exercida. Os AG, *per se*, têm capacidade de ligar-se a todas as isoformas do PPAR.

Até agora, três isoformas foram identificadas: PPARa, predominantemente expresso em tecidos em que haja catabolismo de ácidos graxos, como fígado, rins, coração e músculo, sendo estimulado por ligantes naturais como ácidos graxos e eicosanóides (ex. Leucotrieno B4), e sintéticos, como os fibratos (4). PPARb, também

conhecido como PPARd é expresso em muitos tecidos; estudos recentes sugerem que PPARb/d esteja envolvido no metabolismo lipídico e de ácidos graxos, principalmente no músculo esquelético (5,6,7), podendo ocorrer também no tecido cardíaco (8), e o PPARg, também encontrado sob três isoformas: PPARg1, PPARg2 e PPARg3 (9).

Como já mencionado, a ação dos PPARs é dependente do (s) ligante (s) e, esses, por sua vez, podem ser naturais ou endógenos, como os AG e seus derivados, ou sintéticos, como as drogas antiinflamatórias, hipolipemiantes e antidiabéticas. AG como o linolênico, linoleico e araquidônico tendem a ligar-se principalmente ao PPARa (11,12,13), bem como os derivados de AG, como, por exemplo, o Leucotrieno B4 (10). Os ligantes sintéticos, como os fibratos, entre eles, o clofibrato, fenofibrato e o Wy14643, são substâncias hipolipemiantes, com maior afinidade pelo PPARa (12,13).

A partir dos efeitos sobre o tecido adiposo e músculo esquelético, o PPARg é capaz de regular a ação da insulina, por intermédio de seus ligantes específicos e com alta afinidade por esse receptor (14), como as glitazonas ou tiazonidinedionas, bem como as troglitazonas, pioglitazonas e rizoglitazonas, que são sensíveis à insulina. Ainda, a LDL oxidada (ox-LDL), o 13-HODE (ácido hidroxi octadecadienóico), derivado do ácido linoleico, também são ativadores do PPARg (15,16). Finalmente, o derivado do ácido fenoxicético, L165041, foi identificado como sendo um ligante seletivo para a isoforma PPARb (17), assim como o Wy14643, um hipolipemiante (12).

PPARs e processo inflamatório

Os agonistas do PPARa têm efeito direto, protetor, no endotélio, por inibir a produção de endotelina-1 (18). Pacientes hiperlipidêmicos, tratados com fibratos tiveram indicação de redução de algumas proteínas ligadas ao processo inflamatório, tais como a Proteína Reativa C (PCR), fator de necrose tumoral (TNF)-a e interferon g (19). Os fibratos inibem a ciclooxigenase-2 (COX-2) e IL-6. Nos monócitos, reduzem a expressão de IL-2 e TNFa (20). Recentes estudos indicam que os agonistas do PPARa estão envolvidos nestes efeitos por reduzirem o processo inflamatório via controle negativo do NFkB (Fator Nuclear kB) e AP-1 (Proteína Ativadora-1) (21,22). Outros estudos demonstraram que o PPARg parece ter o mesmo efeito, pois sua atividade transcricional antagoniza a de outros fatores de transcrição, como por exemplo, a do AP-1, STAT e NFkB, responsáveis pelo controle da expressão de genes pró-inflamatórios, tais como a gelatinase B, a inibição da expressão do gene *SR-A*, que codifica uma proteína de superfície celular associada a eventos de adesão celular, e da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS) (27).

As drogas glitazona e pioglitazona, agonistas do PPARg, não têm efeito só hipoglicemiantes, mas também efeito positivo sobre

o metabolismo lipídico, endotélio, estresse oxidativo e inflamação vascular, e ações adicionais das glitazonas podem reduzir o desenvolvimento da aterosclerose.

Além disto, o PPARα e seus agonistas são potentes agentes hipolipemiantes aumentando o colesterol-HDL plasmático e reduzindo os ácidos graxos livres (AGL), triglicerídeos (TG) e colesterol-LDL. Desta forma, estes mediadores reduzem a inflamação vascular e trombose, promovendo fibrinólise e inibindo a produção de endotelina-1 (ET-1) pelo endotélio (23). Finalmente, a diminuição da inflamação e vasoconstrição inibe monócitos quimiotáticos, proliferação e migração de células musculares lisas na parede vascular, diminuindo, assim, a produção de moléculas de adesão e de metaloproteínas.

PPARs na Aterosclerose

Vários estudos foram realizados, focalizando o papel do PPARγ na regulação do metabolismo da glicose e do metabolismo lipídico, porém, pesquisas recentes sugerem papéis adicionais para o PPARγ, principalmente no desenvolvimento de processos inflamatórios e aterosclerótico, tendo sido demonstrada sua presença em células da parede arterial e também em macrófagos (*célula espumosa*) no interior da lesão ateromatosa (24). Por sua vez, a ativação do PPARγ em macrófagos (Mf) leva à expressão do receptor de *scavenger* (limpeza) CD36/FAT, responsável pela captação de LDL-ox, sendo este evento fundamental na diferenciação em Mf com características tipo célula espumosa (25).

Sabe-se, hoje, que as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) oxidadas contêm altas concentrações de derivados lipídicos oxidados, como o 9- e 13-HODE (ácido hidróxi-ocatadecadiênico), eicosanóides, que são indutores da expressão e ativadores diretos do PPARγ. Assim, a ativação do fator de transcrição nuclear PPARγ induz um ciclo que perpetua a lesão aterosclerótica, já que componentes das LDL-ox ativam este fator, desencadeando a expressão de receptores *scavenger*, como o CD36, promovendo crescente internalização de moléculas de LDL-ox contendo ativadores do PPARγ adicionais. Em contra partida, estudos realizados por Chinetti, G. *et alii*, demonstraram que PPARγ e PPARα não induzem formação de células espumosas a partir de monócitos circulantes, agregados à parede arterial e diferenciados em macrófagos, apesar dos seus efeitos sobre a expressão de CD36 (26).

Além da sua participação na regulação do metabolismo do colesterol, recentes achados sugerem um outro papel potencial do PPARγ no processo inflamatório da parede vascular e nos Mf. Estudos mostraram que o PPARγ pode inibir a expressão de genes pró-inflamatórios, durante o processo inflamatório próprio da aterosclerose (27,21,28). Em outro estudo realizado com monócitos humanos, foi demonstrado que PPARγ induz a expressão de transportadores A1 (ABCA1), por um mecanismo que, aparentemente, envolve o receptor α (LXRα) (29). Estes estudos corroboram a idéia de transporte reverso do colesterol de volta para o fígado, captado pelas HDL (lipoproteínas de alta densidade). Estes achados sugerem um possível papel protetor do PPARγ no processo aterosclerótico por inibição da formação de monócitos tipo célula espumosa (30). Achados recentes também sugerem que o ligante natural do PPARγ, a prostaglandina 15d-PG₂ (15-desoxi-D^{12,14}-Prostaglandina J₂) exerce efeito antiinflamatório, não só por ativação do PPARγ, como por inibir o NFκ-B via PPARγ independente (31). De fato, estudos em células endoteliais EaHy926 mostraram que o PPARγ e o PPARα inibiram a translocação nuclear de NFκ-B, bem como a expressão de VCAM-1 (32).

Figura 1. Papel do PPAR_γ na aterosclerose. A LDL (lipoproteína de baixa densidade) é internalizada para o espaço subendotelial, onde sofre modificações oxidativas, progressivamente de um estado minimamente modificada (mmLDL) para oxidada (ox-LDL). Monócitos migram para o espaço subendotelial, diferenciando-se em macrófagos (Mf). A captação de ox-LDL, via receptores de scavengers (CD36 e SR-A), leva à formação de *foam cells*. A oxidação lipídica leva à ativação do receptor nuclear PPARγ, que ativa o receptor α (LXRα), levando a um aumento da expressão de CD36 e, ao mesmo tempo a transcrição da ApoA1, que favorece o transporte reverso de colesterol para o fígado pelo transportador ABCA1, transferindo o colesterol para a apoproteína A1 (apoA1) receptor da lipoproteína de alta densidade (HDL). (Ricote & Glass, *TRENDS in Pharmacological Sciences* – Vol.22, no9, 2001).

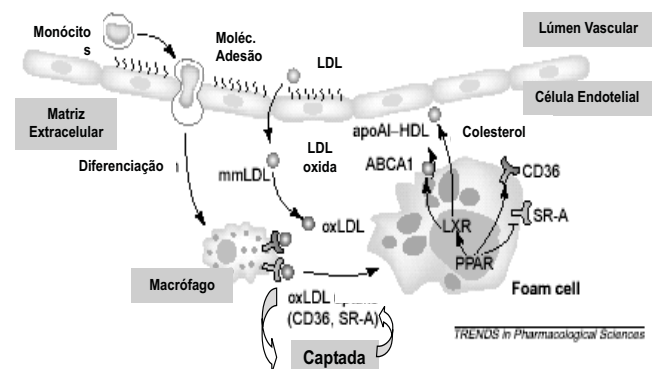
PPARs na Insuficiência Cardíaca

Mecanismos inflamatórios parecem estar implicados na progressão da insuficiência cardíaca, em particular devido ao processo de remodelamento ventricular, que representa a base patogênica para a progressão desta síndrome. De modo sucinto, entende-se que o processo de remodelamento ocorre após determinado tipo de lesão ao músculo cardíaco, em que uma série de alterações na estrutura do miocárdio, envolvendo proteínas da matriz extracelular e sarcômeros, sofrem mudanças fenotípicas, levando a mudanças na geometria ventricular e perda da eficiência biomecânica do coração. Nestes processos celulares e moleculares, mecanismos inflamatórios, levando à ativação de metaloproteínas, promovem degradação do arcabouço de colágeno, induzindo o desalinhamento das fibras miocárdicas. Segundo Tetsuy e colaboradores, em modelo experimental de infarto agudo do miocárdio, o PPARγ pode melhorar o remodelamento e a sua função, diminuindo a hipertrofia dos miócitos e a fibrose intersticial, reduzindo a expressão de TNF-α, TGF-β e a expressão gênica de MCP-1 (proteínas monocíticas quimiotáticas), em níveis de miocárdio não infartado, comparativamente. Para este estudo, foi utilizado um ligante exógeno do PPARγ, a pioglitazona, que foi então associada à atenuação dos efeitos da expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias no ventrículo esquerdo, embora os níveis de iNOS e gelatinase B, aumentados após o infarto, se mantivessem aumentados mesmo com o tratamento de pioglitazona (33).

Além disto, ativação neuro-humoral (sistemas renina-angiotensina e adrenérgico) também contribui para fibrose anormal e hipertrofia de fibras. Neste contexto, a ativação dos PPARs parece exercer efeitos que atenuam o remodelamento, principalmente por atuarem reduzindo a expressão de mediadores inflamatórios, como citocinas, ou ainda inibir a transcrição dos mesmos. Outros efeitos benéficos de ativação de PPARs, por meio dos seus ligantes, no contexto da progressão do remodelamento na insuficiência cardíaca, poderiam ser decorrentes de efeitos exercidos pela ativação do PPARα, que exerce, entre outras funções, o controle do metabolismo lipídico miocárdico, mediante da ação transcricional da carnitina palmitoiltransferase I (CPT1). Durante a hipertrofia cardíaca o PPARα é inibido (35) com redução da capacidade dos miócito em metabolizar os lipídios miocárdicos, resultando no acúmulo de gordura intracelular (23). Em outro estudo, ativadores do PPARα inibiram a expressão de TNFα e NF-κB induzido por LPS (Lipossacarídeo Bacteriano) (37). Ligante como o fenofibrato, por exemplo, teve efeito benéfico na inflamação e fibrose em coração de rato infundido com angiotensinal (38).

O papel do PPARγ no coração é menos esclarecido em relação ao PPARα. Embora sua expressão seja pequena (39), estudos mostraram que seus ligantes parecem ter ação atenuante sobre a hipertrofia, quando tratado, *in vitro*, com tiazolidinedionas e redução da expressão do peptídeo natriurético cerebral em cultura de cardiomiócitos (40). Estes dados sugerem que o PPARγ, além de inibir a hipertrofia cardíaca, também exerce um efeito protetor sobre o miocárdio frente a uma possível injúria isquêmica (23).

Em conclusão, ações mediadas por PPARs, via seus diferentes ligantes, parecem ser importantes na patogênese de doenças cardiovasculares, particularmente naqueles processos envolvendo mecanismos inflamatórios. Considerando a ampla rede de sinalizações intracelulares envolvidas em rotas inflamatórias, tanto na doença aterosclerótica como na progressão do remodelamento ventricular, evento central no desenvolvimento da insuficiência cardíaca, estudos adicionais são necessários para, uma vez melhor



compreendidos estes mecanismos, talvez incluir modulação de PPARs no manejo destas duas condições clínicas tão relevantes em cardiologia.

Referências Bibliográficas

1. Isseman I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347: 645-50, 1990.
2. Gearing KL, Göttlicher M, Teboul M, Widmark E, Gustafsson JA. Interaction of the peroxisome proliferator-activated receptor and retinoid X receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1440-4, 1993.
3. Kliewer AS, Umesono K, Noonan DJ, Heyman RS, Evans RM. Convergence of 9-*cis* retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathway through heterodimer formation of their receptors. *Nature* 358: 771-4, 1992.
4. Desvergne B and Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev.* 20: 649-688, 1999.
5. Chawla A, Lee CH, Barak Y, He W, Rosenfeld J, Liao D, Han J, Kang H, Evans RM. PPAR δ is a very low-density lipoprotein sensor in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 1268-1273, 2003.
6. Marx N, Duez H, Fruchart JC and Staels B. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Atherogenesis: Regulators of Gene Expression in Vascular Cells. *Circ Res* 94: 1168-1178, 2004.
7. Tontonoz P, Hu E and Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 79: 1147-1156, 1994.
8. Gilde AJ, van der Lee KAJM, Willemsen PHM, Chinetti G, van der Leij FR, van der Vusse GJ, Staels B and van Bilsen M. Peroxisome proliferators activated receptor (PPAR) α and PPAR β/δ , but not PPAR γ , modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ Res* 92: 518-524, 2003.
9. Michalik L, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: three isotypes a multiple of functions. *Curr Opin Biotech* 10: 564-70, 1999.
10. Devchand PR, Keller H, Peters JM, Vasquez M, Gonzalez FJ, Wahli W. The PPAR α leukotriene B $_4$ pathway to inflammation control. *Nature* 384: 39-43, 1996.
11. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic drugs polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptor α and δ . *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 4312-7, 1997.
12. Krey G, Braissant O, L'Horest F, Kalkhoven E, Perroud M, Parker MG, Wahli W. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptor by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol Endocrinol* 11:779-91, 1997.
13. Keller H, Dreyer C, Medin J, Mahfoudi A, Ozato K, Wahli W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 2160-4, 1993.
14. Lehman JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Wilson TM, Kliewer AS. The antidiabetic Thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). *J Biol Chem* 270: 12952-6, 1995.
15. Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JG, Chen H, Evans RM. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR γ . *Cell* 93: 229-240, 1998.
16. Hsi LC, Wilson L, Nixon J, Eling TE. 15-hydroxylase-1 metabolites down-regulate peroxisome proliferator-activated receptor γ via the MAPK signaling pathway. *J Biol Chem.* 276 (37): 34545-52, 2001.
17. Berger J, Leibowitz MD, Doeber TW, Elbrecht A, Zang B, Zhou G, Biswas C, Cullinan CA, Hayes NS, Li Y. Novel peroxisome proliferator-activated receptor γ and δ ligands produce distinct biological effects. *J Biol Chem* 274: 6718-25, 1999.
18. Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, et al. Peroxisome Proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. *Circ Res* 85: 394-402, 1999.
19. Madej A, Okopien B, Kowalski J, et al. Effects fenofibrate on plasmacytokine concentrations in patients with atherosclerosis and hyperlipoproteinemia IIb. *Int Clin Pharmacol Ther* 36:345-9, 1998.
20. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR- γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 391: 82-6, 1998.
21. Staels B, Koenig W, Habib A, et al. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR α but not by PPAR γ activators. *Nature* 393: 790-793, 1998.
22. Fruchart JC, Duriez P, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor- α activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 10:245-57, 1999.
23. Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptors and cardiovascular remodelling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 43 (8): 1481-8, 2004.
24. Marx N, et al. Macrophages in human atheroma contain PPAR- γ differentiation-dependent peroxisomal proliferator-activated receptor γ expression and reduction of MMP-9 activity through PPAR- γ activation in mononuclear phagocytes in vitro. *Am. J. Pathol.*, 153: 17-23, 1998.
25. Tontonoz P. et al. PPAR- γ promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 93: 241-252, 1998.
26. Chinetti G. et al. PPAR- α and PPAR- γ activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med* 7: 53-58, 2001.
27. Ricote M, Li AC, Wilson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor γ is negative regulator of macrophage activation. *Nature* 391: 79-82, 1998.
28. Jiang, C. et al. PPAR γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 391: 82-86, 1998.
29. Chawla A. et al. PPAR- γ -dependent and-independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nat Med* 7: 48-52, 2001.
30. Oliver WR. et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 5306-5311, 2001.
31. Rossi A, Kapahi P, Natoli G, Takahashi T, Chen Y, Karim M, Santoro MG. Antiinflammatory cyclopentenone prostaglandins are direct inhibitors of I κ -B kinase. *Nature* 403: 103-108, 2000.
32. Rival Y, Benéteau N, Taillandier T, Pezet M, Dupont-Passelaigue E, Patoiseau JF, Junquéro D, Colpaert F, Delhon A. PPAR α and PPAR γ activators inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF- κ B and expression of VCAM-1 in EAhy926 endothelial cells. *European Journal of Pharmacology* 435: 143-151, 2002.
33. Tetsuya Shiomi, Hiroiuki Tsutsui, Shunji Hayashidani et al. Pioglitazone, a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Agonist, Attenuates Left Ventricular Remodeling and Failure Experimental Myocardial Infarction. *Circulation* 106:3126-3132, 2002.
34. Ijpenberg A, Jeannin E, Wahli W and Desvergne B. Polarity and specific sequence requirements of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)/retinoid X receptor heterodimer binding to DNA. A functional analysis of the malic enzyme gene PPAR response element. *J Biol Chem* 272: 20108-20117, 1997.

35. Brandt JM, Djouadi F and Kelly DP. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor α . *J Biol Chem* 273: 23786-23792, 1998.
36. Barger PM, Brandt JM, Leone TC, Weinheimer CJ and Kelly DP. Deactivation of peroxisome proliferator-activated receptor- α during cardiac hypertrophic growth. *J Clin Invest* 105: 1723-1730, 2000.
37. Takano H, Nagai T, Asakawa M, Toyozaki T, Oka T, Komuro I, Saito T and Masuda Y. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α expression in neonatal rat cardiac myocytes. *Circ Res* 87: 596-602, 2000.
38. Diep QN, Benkirane K, Amiri F, Cohn JS, Endemann D and Schiffrin EL. PPAR α activator fenofibrate inhibits myocardial inflammation and fibrosis in angiotensin II-infused rats. *J Mol Cell Cardiol* 36: 295-304, 2004.
39. Kelly DP. PPARs of the heart. *Circ Res* 92: 482-484, 2003.
40. Yamamoto K, Ohki R, Lee RT, Ikeda U and Shimada K. Peroxisome proliferator-activated receptor γ activators inhibit cardiac hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation* 104: 1670-1675, 2001.