

Tatiana Cristina Carloto Marques

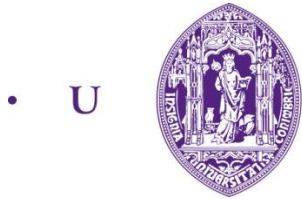
HDL como Alvo Terapêutico na Prevenção da Aterosclerose

Monografia realizada no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, sob orientação da Professora Doutora Leonor Martins Almeida e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Tatiana Cristina Carloto Marques

HDL como Alvo Terapêutico na Prevenção da Aterosclerose

Monografia realizada no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, sob orientação da Professora Doutora Leonor Martins Almeida e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Coimbra, 2014

A tutora:

(Professora Doutora Leonor Martins Almeida)

A aluna:

(Tatiana Cristina Carloto Marques)

Eu, Tatiana Cristina Carloto Marques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009971, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho de 2014.

(Tatiana Cristina Carloto Marques)

AGRADECIMENTOS

É com sincera gratidão que deixo aqui um especial agradecimento:

À Professora Doutora Leonor Martins Almeida pela disponibilidade, sábia orientação e boa vontade que sempre demonstrou;

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e aos seus professores por todos os conhecimentos transmitidos e aprendizagens proporcionadas;

Aos meus pais e aos meus irmãos, por todo o amor, por sempre terem estado do meu lado e com os quais sei que posso contar;

Ao Renato, por ser um pilar e fonte de motivação constante, e às minhas amigas por todo o apoio, compreensão e orientação;

A Coimbra.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	5
2. DISLIPIDÉMIA, DOENÇAS CARDIOVASCULARES E ATROSCLEROSE	5
4. FUNÇÕES DAS HDL	9
4.1. EFLUXO DE COLESTEROL DOS TECIDOS E TRANSPORTE REVERSO	10
4.2. FUNÇÃO ENDOTELIAL	12
4.2.1. Propriedades anti-inflamatórias e vasodilatadoras	12
4.2.2. Propriedades anti-trombóticas e anti-apoptóticas	12
4.3. PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES	13
5. RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE HDL E RISCO CARDIOVASCULAR	13
6. HDL DISFUNCIONAL	14
7. ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR AS HDL	15
8. TERAPIAS EM DESENVOLVIMENTO	16
8.1. INIBIDORES DA PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE ÉSTERES DO COLESTEROL	16
8.2. INIBIDORES DA LIPASE ENDOTELIAL	17
8.3. MODULADORES DA LECITINA-COLESTEROL ACILTRANSFERASE (LCAT)	18
8.4. MOLÉCULAS QUE AUMENTAM DIRETAMENTE AS HDL OU A APOLIPOPROTEÍNA A-I	18
8.5. MOLÉCULAS QUE MIMETIZAM A FUNÇÃO DAS HDL	19
8.6. AGONISTAS DOS RECETORES LXR	20
8.7. TERAPIA GÉNICA	20
9. CONCLUSÃO	21
BIBLIOGRAFIA	23

RESUMO

As doenças cardiovasculares constituem um foco de intenso interesse devido à sua elevada mortalidade e morbidade a nível mundial. Assim, têm sido motivo de investigação no sentido do desenvolvimento de novas terapêuticas para diminuir a sua incidência. Apesar das terapêuticas atualmente utilizadas serem bastante eficazes na diminuição do risco dessas doenças, a probabilidade de ocorrência de eventos cardiovasculares continua a existir, devido à complexidade do processo aterosclerótico. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) mostram muitas funções biológicas que lhe conferem propriedades cruciais na prevenção da aterosclerose. Muitos estudos *in vitro* e *in vivo*, em animais, demonstraram que o aumento da concentração plasmática das HDL poderia ser um bom alvo terapêutico na redução do risco cardiovascular, no entanto, os resultados dos ensaios clínicos, até à data, são controversos. De um modo geral, a aplicação de terapias dirigidas ao aumento dos teores de HDL, em associação com a terapêutica habitual com estatinas, não demonstrou um benefício clínico consistente, sendo que, na maior parte dos casos se tenha verificado um aumento da concentração plasmática de HDL, esta não se traduziu numa redução do risco cardiovascular [1]. No futuro, prevê-se uma mudança de paradigma no qual será mais importante medir a qualidade funcional das HDL do que os seus teores plasmáticos, em termos da concentração de colesterol-HDL.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are a major health problem due to its high mortality and morbidity worldwide. Thus, there is an intense research focused on developing new therapeutic strategies to reduce the incidence and the severity of such diseases. Although the current drug therapies are very effective in reducing the risk, the probability of cardiovascular events still exists due to the complexity of the atherosclerotic process. The high-density lipoproteins (HDL) have shown many biological functions responsible for their beneficial effects on atherosclerosis. Several *in vitro* and *in vivo* studies in animals have shown that the increase in HDL plasma levels might be a potential therapeutic target in cardiovascular risk reduction, but results obtained in clinical trials, until now, are somewhat disappointing. In general, the association of therapies to increase HDL levels, with that largely used with statins, did not show a real clinical benefit, although in most cases, an increase in HDL plasma levels was observed, in terms of HDL-cholesterol [1]. In future, a paradigm shift is, therefore, envisaged, which takes into account the preferential measurement of the functional quality of HDL particles, relative to the plasma levels of HDL-cholesterol.

ABREVIATURAS

15-LPO – 15-Lipoxigenase

ABCA1 – *ATP-binding cassette A1*

ABCG1 – *ATP-binding cassette G1*

ACS – Síndrome Coronária Aguda

ApoA-I - Apolipoproteína A-I

CAD – Doença Arterial Coronária (*Coronary Arterial Disease*)

CE – Ésteres do Colesterol

CEPT – Proteína de transferência de ésteres de colesterol (*Cholesterol Ester Protein Transfer*)

C-HDL – Colesterol das lipoproteínas de alta densidade

D-4F – D-4 Fenilalanina

DCV – Doenças Cardiovasculares

DHCR24 - *24-Dehydrocholesterol reductase*

eNOS – Óxido nítrico sintase endotelial

EPCs – Células endoteliais progenitoras (*Endotelial Progenitor Cells*)

GSPx – Glutatião peroxidase dependente de selênio

HDL – Lipoproteínas de alta densidade

LCAT – Lecitina colesterol aciltransferase

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LDLR – Recetores das lipoproteínas de baixa densidade

LOOHs – Hidroperóxidos lipídicos

LOX-1 - *Lecitin-like oxidized receptor-1*

LXR – Recetor X do fígado (*Liver X Receptor*)

MCP-1 - Proteína quimiotática dos monócito (*Monocyte Chemoattractant Protein 1*)

miRNA – Micro-Ácido Ribonucleico

MPO – Mieloperoxidase

NO – Óxido nítrico

PAF-AH - Acetil-hidrolase do fator ativador de plaquetas (*Platelet Activator Factor- Acetyl Hydrolase*)

PI3K/Akt - Fosfatidilinositol-3-cinase

PKC-βII – Proteína cinase C-βII

PLTP – Proteína de transferência de fosfolípidos (*Phospholipid Transfer Protein*)

PON – Paraoxonase

PPAR- α – *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α*

SIP – Esfingosina 1-fosfato

SAA – Proteína amilóide sérica A (*Serum Amyloid Protein A*)

SR-BI – *Scavenger Receptor B I*

TG – Triglicérido

TLR – *Toll-like Receptor*

VCAM-1 – *Vascular Cellular Adhesion Molecule-1*

VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade

I. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) relacionadas com a aterosclerose, como a doença arterial coronária (CAD), a doença arterial periférica e os acidentes vasculares periféricos (AVC), são atualmente a principal causa de morte a nível global, causando cerca de um terço das mortes a nível mundial. Cerca de 75% dos casos são causados por fatores como a dislipidemia, tabagismo e pressão arterial elevada. Existem outros fatores como hiperglicemia, diabetes mellitus e obesidade que são também fatores de risco para o desenvolvimento de DCV [2].

O desenvolvimento destas patologias é gradual e assintomático na maioria das vezes, no entanto estas doenças são de manifestação súbita e têm uma elevada taxa de mortalidade. Sendo assim, é necessário focar a atenção dos profissionais de saúde e dos doentes para a importância da sua prevenção. A primeira fase passa pela alteração do estilo de vida, como a redução da ingestão de alimentos ricos em ácidos gordos saturados, redução da ingestão de hidratos de carbono e a prática de exercício físico regular, entre outros. No entanto, esta fase tem que ser muitas vezes acompanhada ou procedida por tratamento farmacológico.

Atualmente, o tratamento farmacológico da dislipidemia tem o objetivo principal de baixar a concentração das LDL (lipoproteínas de baixa densidade), nomeadamente com as Estatinas. Existe uma relação linear entre a utilização de Estatinas e a diminuição do risco cardiovascular, com diminuição de morte e de grandes eventos cardiovasculares [2], no entanto continua a existir um risco residual para o desenvolvimento de DCV. Assim, a utilização de outras terapêuticas que atuem também na redução dos triglicéridos (TG) ou no aumento do colesterol das HDL (lipoproteínas de alta densidade), tem adquirido grande relevância, no sentido de baixar ao máximo possível o risco cardiovascular.

Neste contexto, tem sido demonstrada uma robusta correlação inversa entre os teores plasmáticos de colesterol-HDL (C-HDL) e a incidência de doenças cardiovasculares [1]. Níveis baixos de C-HDL demonstraram ser um fator de risco independente para o desenvolvimento do enfarte do miocárdio, mesmo em indivíduos normocolesterolémicos [1]. Estas observações levaram à criação da chamada *HDL hypothesis*, segundo a qual, uma intervenção farmacológica que aumente o C-HDL irá levar a uma diminuição da incidência de DCV.

2. DISLIPIDÉMIA, DOENÇAS CARDIOVASCULARES E ATEROSCLEROSE

O colesterol desempenha um papel importante na fisiologia humana pois é um componente estrutural essencial das membranas celulares e também um precursor dos ácidos biliares e das

hormonas esteróides [3]. A maior parte do colesterol no *pool* plasmático é sintetizado *de novo* pelo fígado, mas o colesterol proveniente da dieta desempenha um papel importante na medida em que tem um efeito regulador no processo da síntese. O colesterol está presente em todas as lipoproteínas, no entanto cerca de 60% do colesterol plasmático é transportado pelas LDL; no plasma, o colesterol sofre esterificação através da enzima LCAT (lecitina colesterol aciltransferase) que ocorre à superfície das HDL, sendo depois incorporado no seu interior [3]. A maior parte do colesterol livre é eliminada da circulação sanguínea pela via hepatobiliar, diretamente ou pela transformação em ácidos biliares. Na eliminação do colesterol, as HDL têm um papel fundamental não só no transporte do colesterol dos tecidos para o sangue, o chamado transporte reverso do colesterol (RCT), mas também no transporte do colesterol para o fígado [3].

Quando há uma elevada ingestão de gorduras e/ou um problema a nível da síntese ou da eliminação do colesterol, pode ocorrer hipercolesterolemia, um dos tipos de dislipidemia, embora mais frequentemente, esteja relacionada com a diminuição do catabolismo das LDL.

A dislipidemia é uma situação definida como uma alteração na concentração sérica lipídica. O conceito de dislipidemia aterogénica está associado a teores elevados de TG e de C-LDL e teores baixos de C-HDL; além disso, as concentrações elevadas de VLDL e LDL ricas em TG, de apolipoproteína-B e a oxidação das LDL desempenham também um papel crítico no desenvolvimento da aterosclerose. Cada um destes elementos, por si próprio, é reconhecido como um fator de risco independente para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. [4].

A aterosclerose é uma doença inflamatória, de baixo nível, na qual as LDL têm um papel muito relevante, podendo ser um fator desencadeador desse processo, como se pode ver na Figura 1. A formação da placa aterosclerótica ocorre em três estádios progressivos: (1) Formação de estrias gordas que se desenvolvem gradualmente nas lesões em crescimento; (2) Formação da placa fibrosa que resulta da proliferação de células do músculo liso e a sua invasão para a íntima, e da formação de uma cápsula fibrosa rica em colagénio que cobre o núcleo lipídico que, por sua vez, é constituído por células esponjosas cheias de ésteres do colesterol; (3) Necrose de células esponjosas e do músculo liso, com formação do núcleo necrótico, podendo ocorrer a rutura da placa e a formação de um trombo [3]. O início da primeira fase deste processo inflamatório é ainda motivo de alguma controvérsia e de discussão científica. No entanto, sabe-se que diversos fatores podem estar implicados na entrada e acumulação de LDL na íntima e, conseqüentemente, na sua oxidação [3].

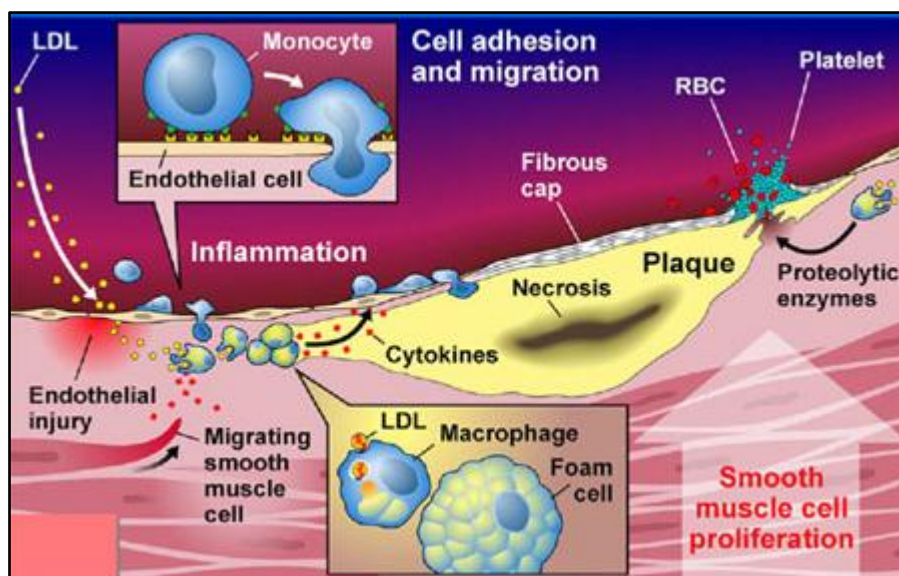


Figura 1 – Esquema do processo de formação da placa aterosclerótica. A entrada e acumulação de LDL na íntima, com a subsequente oxidação destas partículas origina uma resposta das células endoteliais que leva à adesão dos monócitos em circulação ao endotélio e à sua migração para a íntima, onde são diferenciados em macrófagos, gerando-se um ambiente pró-inflamatório, de baixo nível, que caracteriza o processo aterosclerótico. A captação descontrolada das LDL oxidadas pelos macrófagos origina nestes a acumulação intracelular de colesterol e a sua transformação em células esponjosas, que se vão acumulando na íntima, formando as estrias gordas, a lesão primária da aterosclerose. A posterior proliferação das células do músculo liso, estimulada pelas LDL modificadas e por mediadores inflamatórios produzidos na íntima, e a sua invasão para a íntima contribui para a formação da placa fibrosa que ocorre ao longo dos anos. (Fonte: <http://www.medscape.org/viewarticle/557238>)

O *shear stress* arterial pode ser um dos fatores condicionantes da acumulação de LDL na íntima, bem como na localização das lesões. O *shear stress* é definido como a força tangencial de fricção que a corrente sanguínea exerce sobre a parede endotelial, devendo ser mantido num intervalo fisiológico de modo a preservar a função endotelial. Demonstrou-se que os locais onde há um elevado *shear stress*, são os locais onde se desenvolvem preferencialmente as lesões ateroscleróticas, nomeadamente as ramificações e curvaturas dos grandes vasos sanguíneos, onde se verifica maior turbulência e, conseqüentemente, maior probabilidade de alteração da permeabilidade endotelial, o que facilita a entrada das LDL [5]. Por outro lado, ao haver uma concentração muito elevada de LDL na corrente sanguínea e uma matriz na camada íntima da parede vascular que aprisiona as partículas pequenas de LDL, o influxo destas, do plasma para a parede arterial, passa a ser maior do que o seu efluxo, podendo ocorrer a sua acumulação [3].

Na íntima, em que há um elevado stresse oxidativo, as LDL acumuladas podem sofrer oxidação, ficando minimamente oxidadas. O aumento destas vai promover o recrutamento de monócitos da corrente sanguínea para o endotélio, mediado por moléculas de adesão sintetizadas pelo endotélio, nomeadamente a *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* (VCAM-1), P- e E- selectinas e a *Intercellular Adhesion Molecule 1* (ICAM-1) [6]. Os monócitos recrutados sofrem aí, posteriormente,

maturação em macrófagos que vão captar, de forma descontrolada, as LDL já extensamente oxidadas (com a Apo B modificada). A acumulação de colesterol nos macrófagos vai levar à formação das células esponjosas que, ao acumularem-se na íntima, vão formar as estrias gordas, a lesão primária da aterosclerose [3].

3. LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDADE E AS SUAS SUBFRACÇÕES

As HDL pertencem a uma classe heterogénea de lipoproteínas que diferem tanto na composição lipídica como na proteica, na sua forma, tamanho e densidade. Podem ser discoides ou esféricas, consoante a sua composição; as partículas discoides são pequenas e contêm ApoA-I, fosfolípidos e colesterol livre, enquanto as esféricas são de maior tamanho e têm um núcleo hidrofóbico com grande quantidade de ésteres do colesterol (CE) [3].

As HDL podem ser fracionadas através de vários métodos, resultando em diferentes classes com atividades físico-químicas e bioquímicas também distintas. A ultracentrifugação sequencial leva à separação, com base na densidade, de duas subfracções, as HDL2 (*large lipid-rich HDL*) e as HDL3 (*small dense HDL*). Por sua vez, ambas podem ser ainda subfracionadas, com recurso a eletroforese em gel, em 5 subpopulações distintas: HDL2b, HDL2a, HDL 3a, HDL3b e HDL3c[1]. No entanto, fazendo a separação das subfracções das HDL por eletroforese a duas dimensões em gel, com base no seu tamanho e carga, obtém-se um perfil diferente: (1) pre-β HDL, que inclui as partículas pre-β1 (contém uma molécula de apoA-I e fosfolípidos), pre-β2, pre-β3 e pre-β4 (contêm 2 a 4 moléculas de ApoA-I, fosfolípidos e colesterol livre); (2) α-HDL e (3) pre-α HDL [7]. Tendo em conta a heterogeneidade das HDL e a diversidade de possíveis classificações, recentemente foi proposta uma nomenclatura uniforme com base na densidade, tamanho e carga elétrica, como se pode ver resumido na Tabela I.

Tabela I – Classificação das partículas de HDL de acordo com a sua densidade, tamanho e carga elétrica. *Adaptado de Rosenson et al. [9]*

TERMO PROPOSTO	<i>Very large HDL</i> (HDL-VL)	<i>Large HDL</i> (HDL-L)	<i>Medium HDL</i> (HDL-M)	<i>Small HDL</i> (HDL-S)	<i>Very small HDL</i> (HDL-VS)
Densidade (g/mL)	1.063 – 1.087	1.088 – 1.111	1.110 – 1.129	1.129 – 1.154	1.154 – 1.25
Tamanho (nm)	12.9 – 9.7	9.7 – 8.8	8.8 – 8.2	8.2 – 7.8	7.8 – 7.2
Eletroforese em gel	HDL2b	HDL2a	HDL3a	HDL3b	HDL3c
Eletroforese 2D em gel	α-1 HDL	α-2 HDL	α-3 HDL	α-4 HDL	Preβ-1 HDL

Há evidência de que a concentração de HDL expressa em HDL-P (número de partículas de HDL) fornece melhor informação clínica do que a concentração plasmática de C-HDL. Essa medida pode ser feita com recurso a métodos da ressonância magnética nuclear (NMR) e/ou de mobilidade iônica [8].

Outros métodos analíticos têm sido usados para descrever as partículas de HDL com base na sua mobilidade electroforética e na composição em apolipoproteínas [9]. A apolipoproteína A-I é a proteína mais abundante nas partículas de HDL (cerca de 70% do total de proteínas) seguida da apolipoproteína A-II (cerca de 20%) [7]. Além disso, há diversas enzimas envolvidas no metabolismo lipídico que estão presentes nas partículas de HDL como: a enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) e as enzimas com atividade antioxidante como a paraoxonase I (PON1), a acetil-hidrolase do fator ativador de plaquetas (PAF-AH) e a glutatíon peroxidase dependente de selênio (GSPx). Possui ainda a proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP), relevante também na regulação do metabolismo das HDL [7].

A apoA-I é sintetizada pelo fígado e pelo intestino; após a sua secreção, esta proteína rapidamente adquire fosfolípidos e colesterol livre, formando as partículas de HDL nascentes (pre- β 1 HDL) de forma discoide que representam o tipo de HDL maioritariamente libertado pelo fígado para o plasma [7]. Essas partículas sofrem maturação quando recebem mais colesterol livre dos tecidos através da interação com o recetor ABCA1 na membrana plasmática das células; esse colesterol livre que se liga às partículas de HDL é posteriormente esterificado pela LCAT. É neste ponto que as partículas de HDL deixam de ser discoides e passam a possuir uma forma esférica (α -HDL), devido à hidrofobicidade dos ésteres de colesterol formados, que passam para o seu interior. As partículas de α -HDL podem adquirir mais colesterol livre através de outros recetores, como o ABCG1, formando partículas esféricas grandes de HDL2, com um núcleo lipídico constituído por colesterol esterificado e pequena quantidade de triglicéridos [7].

Mais recentemente, através de tecnologias de alta resolução a nível molecular, como a espetrometria de massa, tornou-se possível demonstrar não só a complexidade da composição proteica das HDL, o proteoma, bem como também da sua composição em lípidos, o lipidoma [1]. Este estudo mais aprofundado permite compreender a natureza das interações proteína-proteína, lípido-lípido e proteína-lípido e a sua relação com a funcionalidade das HDL [1].

4. FUNÇÕES DAS HDL

As HDL desempenham múltiplas funções, esquematizadas na Figura 2, incluindo o efluxo de colesterol dos tecidos e o transporte reverso para o fígado, atividades anti-inflamatórias e

vasodilatadoras, anti-trombóticas, anti-apoptóticas e antioxidantes, conforme abaixo se desenvolve.

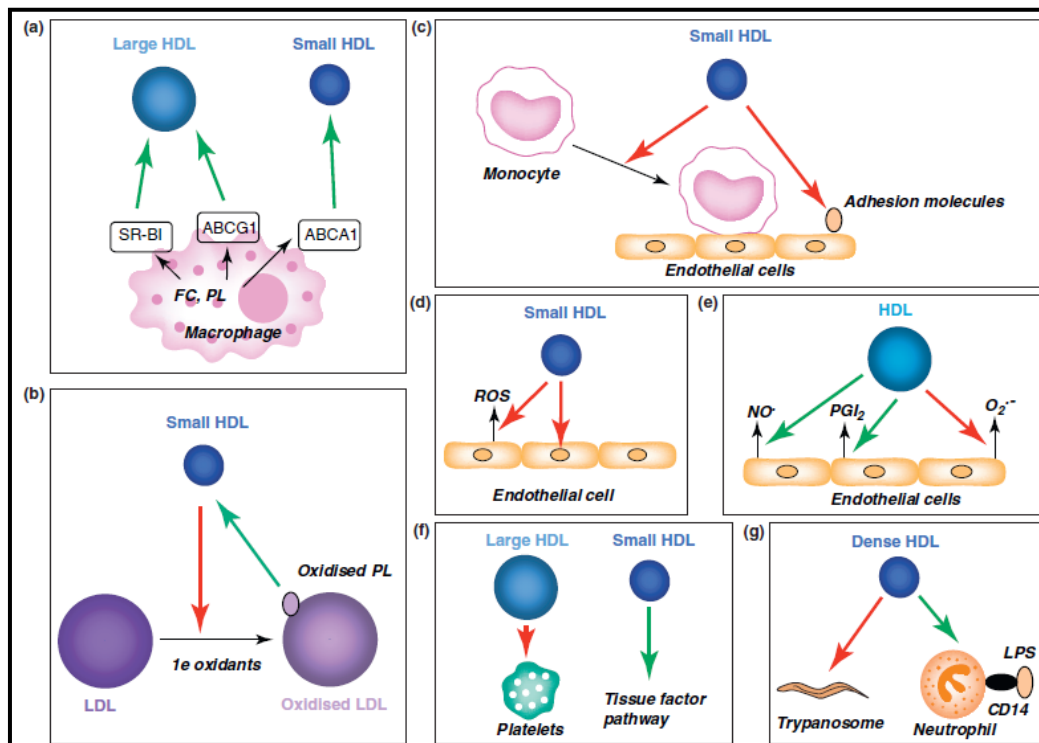


Figura 2 - Resumo das principais funções das HDL. (a) Efluxo do colesterol dos macrófagos; (b) Atividade antioxidante; (c) Atividade anti-inflamatória; (d) Atividade anti-apoptótica e citoprotetora; (e) Atividade vasodilatadora; (f) Atividade anti-trombótica; (g) Atividade anti-infecciosa. As setas verdes e vermelhas representam os efeitos estimulantes e inibidores, respetivamente. Adaptado de Camont et al (2011) [10].

4.1. EFLUXO DE COLESTEROL DOS TECIDOS E TRANSPORTE REVERSO

O transporte reverso do colesterol é a função das partículas de HDL que se encontra melhor caracterizada. Este é um processo no qual se promove o transporte do excesso de colesterol dos tecidos periféricos para posterior eliminação pelo fígado.[7] É um processo essencial na prevenção da aterosclerose, na medida em que é através dele que ocorre o efluxo do colesterol dos macrófagos da parede arterial, impedido aí a sua acumulação. Este efluxo pode ocorrer por diferentes vias que podem ser independentes de transportadores (difusão aquosa) ou dependentes dos transportadores como: *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1) e *ATP-binding cassette transporter G1* (ABCG1) e ainda *scavenger receptor class I* (SR-B1) [11].

O processo de difusão aquosa consiste no simples efluxo das moléculas de colesterol livre da membrana plasmática, através do espaço aquoso extracelular e incorporação em partículas de

HDL por gradiente de concentração. Apenas cerca de 1-2% do colesterol celular sofre efluxo através desta via, pelo que pode ser questionável a sua importância na manutenção da homeostase do colesterol e na prevenção da aterosclerose [11].

O transportador ABCA1 serve de mediador na transferência do colesterol celular e dos fosfolípidos para as partículas apoA-I *lipid-free*, formando as HDL nascentes. Ao contrário do que se verifica na difusão aquosa, este é um processo ativo e unidirecional, mediado por um transportador, no qual as ligações que se estabelecem são ainda tema de alguma controvérsia [11]. De modo a comprovar a relação entre a expressão do transportador ABCA1 e os teores de C-HDL, vários investigadores têm trabalhado nesse sentido. Recentemente, foi reportado que a supressão da expressão do transportador ABCA1 originava uma diminuição dos níveis de C-HDL [12]. No mesmo estudo, verificou-se ainda que através da inibição do miRNA, ocorreu o aumento da expressão do ABCA1 e dos teores de C-HDL, sugerindo que o antagonismo do miRNA poderá ser uma via para a proteção da aterosclerose.[12] Sendo assim, pode concluir-se que o transportador ABCA1 desempenha um papel importante no efluxo do colesterol celular, podendo ser um bom alvo terapêutico, nomeadamente através de terapia génica com o miRNA [11].

O transportador ABCG1 demonstrou também ter relevância no processo de transporte reverso do colesterol. Neste caso, o aceitador primário não é a apoA-I *lipid-free*, mas sim as partículas de HDL esféricas [8]. Os dois transportadores (ABCA1 e ABCG1) trabalham sinergicamente, podendo ambos ser regulados pelo miR-33 e pelo *liver-X receptor* (LXR) [11]. O LXR tem um papel importante no núcleo, na regulação da expressão destes transportadores; quando há um aumento do colesterol livre na célula, há formação de oxisteróis através da enzima colesterol hidroxilase, que vão funcionar como ligandos para o LXR, o que provoca um aumento da expressão daqueles transportadores. Sendo assim, agonistas dos LXR poderão ser usados de modo a aumentar o efluxo do colesterol dos macrófagos [11].

O recetor SR-B1 atua também no transporte reverso do colesterol, na medida em que participa na entrega do colesterol das HDL ao fígado. Este funciona como recetor de partículas HDL grandes, nomeadamente HDL2, mediando a captação seletiva dos ésteres de colesterol [11]. Em contraste com estudos *in vitro*, estudos *in vivo* indicaram que o SR-B1 não promove o efluxo de colesterol dos macrófagos como se verifica com o ABCA1 e o ABCG1 [13].

As partículas de HDL maduras podem entregar o colesterol no fígado, para posterior eliminação, através de três vias distintas: i) via mediada pelo recetor SR-B1 hepático (como foi referido anteriormente), em que há captação dos ésteres de colesterol (CE), mas não dos componentes proteicos das HDL; ii) endocitose das HDL; iii) transferência de CE das HDL para as

lipoproteínas com apo B (LDL, VLDL), mediada pela proteína de transferência dos ésteres de colesterol (CETP). Nesta última via, o CE é captado pelo fígado através dos recetores hepáticos das LDL (LDLR) [14,15].

4.2. FUNÇÃO ENDOTELIAL

4.2.1. Propriedades anti-inflamatórias e vasodilatadoras

As partículas de HDL têm a capacidade de prevenir a inflamação vascular através de diferentes vias, nomeadamente através da inibição da expressão de moléculas de adesão endotelial, como a VCAM-1 e a E-selectina [11,14]. Esta inibição, em particular da VCAM-1, foi atribuída aos lisosfingolípidos presentes nas HDL, nomeadamente à esfingosina-1-fosfato (S1P) [14]. Por outro lado, as HDL também inibem a expressão da interleucina-8 e da proteína quimiotática dos monócitos (MCP-1) [11], o que leva a uma diminuição do recrutamento de monócitos, células dendríticas e linfócitos T do plasma para o local da inflamação [7]. Mais recentemente, descreveram-se outros dois mecanismos; o primeiro, no qual as HDL induzem a ativação da enzima anti-inflamatória 3- β -hidroxi-esteróide-delta 24 redutase, que tem a capacidade de neutralizar peróxidos, demonstrando assim, para além das propriedades anti-inflamatórias, também propriedades antioxidantes [8]; o segundo, no qual as HDL inibem a atividade do *toll-like receptor-4* no endotélio, diminuindo a síntese do interferon- β , o que leva à supressão das respostas inflamatórias [8].

É reconhecida também a capacidade das HDL para estimular a atividade da enzima óxido nítrico sintase (eNOS), aumentando desta forma a produção de óxido nítrico (NO), um vasodilatador fisiológico crucial. Esta ativação envolve a ligação das HDL ao recetor SR-B1, que vai ativar a via sinalizadora fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K)/Akt, responsável pela fosforilação da eNOS no resíduo Ser1177, e conseqüente ativação [11]. No entanto, as HDL de indivíduos com CAD parecem ter uma ação diferente, pois ativam a proteína cinase-C- β II (PKC- β II) endotelial, levando à inibição da fosforilação da eNOS nesse resíduo, estimulando a fosforilação da enzima no resíduo Thr495, o que vai inibir a função da eNOS [11].

4.2.2. Propriedades anti-trombóticas e anti-apoptóticas

O fenómeno da agregação plaquetar e a formação de trombos contribui diretamente para a patogénese e complicações da aterosclerose. As partículas de HDL demonstraram ser inibidoras da ativação das plaquetas e da sua agregação [14]. Ensaios *in vitro* demonstraram que as HDL têm a

capacidade de inibir a expressão do fator tecidual, a activação do fator X e a secreção do fator ativador do plasminogénio [11,16].

A apoptose celular, em parte estimulada pelas oxLDL, constitui outro dos mecanismos responsáveis pelos danos provocados no endotélio que levam à aterosclerose. Recentemente, demonstrou-se que as HDL de indivíduos saudáveis têm a capacidade de induzir a expressão das proteínas anti-apoptóticas Bcl-2 e Bcl-xL nas células endoteliais, inibindo assim a sua apoptose. No entanto, as HDL de indivíduos com doença arterial coronária mostraram ser desprovidas dessa função [17].

4.3. PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

As partículas de HDL têm a capacidade de prevenir a peroxidação lipídica das LDL, através de diferentes mecanismos. Existem diversas enzimas nas HDL, envolvidas na prevenção da oxidação lipídica e na degradação dos hidroperóxidos lipídicos (LOOHs), nomeadamente a PAF-AH, a GSPx e a PON1 [11]. A apolipoproteína A-I desempenha também um papel importante na atividade antioxidante das HDL, já que, devido aos seus resíduos Metionina 112 e 148, reduz os LOOHs formados durante a peroxidação lipídica a hidróxidos lipídicos inactivos [18].

5. RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE HDL E RISCO CARDIOVASCULAR

Teores plasmáticos baixos de HDL têm sido associados a um maior risco de doença cardiovascular, incluindo o enfarte do miocárdio e o AVC, representando um fator de risco independente [7]. Assim, o aumento das HDL tem sido um alvo terapêutico para diminuição do risco cardiovascular. Muitos estudos demonstram esta relação inversa; por exemplo, no estudo PROCAM (*Prospective Cardiovascular Munster*), os indivíduos com C-HDL >35 mg/dL mostraram uma redução em cerca de 70% no desenvolvimento de doença cardiovascular ao longo de 6 anos, comparativamente com os indivíduos com C-HDL <35 mg/dL [19]. Alguns dos estudos realizados tentaram demonstrar que, ao aumentar a concentração plasmática de C-HDL, se obtém uma redução no risco cardiovascular. Neste sentido, no estudo VA-HIT (*Veterans Affairs High Density Lipoprotein Cholesterol Intervention*), fez-se a administração de Gemfibrozil, um fibrato hipolipémico, em indivíduos com doença coronária já estabelecida e com baixas concentrações plasmáticas de C-HDL, tendo-se obtido apenas um ligeiro aumento do C-HDL e uma redução em cerca de 24% nos eventos cardiovasculares *major* (morte por doença coronária, enfarte do miocárdio e acidente

vascular cerebral), em comparação com o grupo placebo [20]. Além disso, no estudo ARBITER 6-HALTS (*Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol 6-HDL and LDL Treatment Strategies in Atherosclerosis*) demonstrou-se que a combinação da sinvastatina com a niacina, um fármaco que aumenta as HDL, originou um aumento significativo do C-HDL com regressão na espessura da camada íntima-média das carótidas e menor incidência de eventos cardiovasculares, quando comparado com a combinação da sinvastatina com a ezetimiba [21].

No entanto, muitos outros ensaios falharam na demonstração dos efeitos benéficos do aumento do C-HDL. O estudo AIM-HIGH (*Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome with low HDL/High Triglycerides: Impact on Global Health Outcome*) foi interrompido após 3 anos de seguimento dos doentes, por não se ter demonstrado benefício clínico com a adição da niacina à terapia com sinvastatina, apesar de se ter verificado um aumento no C-HDL [22]. Além disso, a terapia com a niacina tem sido frequentemente descontinuada devido ao seu perfil de efeitos adversos, principalmente o rubor [23].

Outros ensaios clínicos utilizando fármacos inibidores da enzima CETP tiveram também resultados desapontantes. No estudo ILLUMINATE (*Investigation of Lipid Level Management to Understand its Impact in Atherosclerotic Events*), a intervenção com o torcetrapib juntamente com a atorvastatina, originou um aumento de cerca de 72,1% no C-HDL, mas acompanhado de um aumento no risco de eventos cardiovasculares e de morte [24].

Os resultados obtidos sugerem que a terapêutica com o objetivo de aumentar o C-HDL, não traz benefício adicional para diminuir o risco cardiovascular dos doentes tratados com Estatinas.

6. HDL DISFUNCIONAL

Apesar de estarem demonstradas tantas funções das HDL e estas partículas terem um grande potencial na proteção da aterosclerose, demonstrou-se também que existem variadas situações e condições patológicas em que há uma alteração funcional das HDL, podendo estas perder as suas funções de protecção [14,25]. Durante uma resposta a uma fase aguda, há uma redução tanto dos níveis de C-HDL como de apoA-I em humanos; a proteína de fase aguda amiloide sérica A (SAA) rapidamente se associa às HDL, substituindo a apoA-I que, por sua vez, vai ser rapidamente eliminada por vias hepática e renal. Além disso, durante a inflamação há uma diminuição na expressão do gene que codifica a apoA-I [7].

Recentemente, foi reportado que as HDL de indivíduos com insuficiência renal crónica (IRC), em contraste com as HDL de indivíduos saudáveis, promovem a produção de superóxidos a

nível endotelial, reduz substancialmente a biodisponibilidade de óxido nítrico e, conseqüentemente, promove o aumento da pressão arterial via ativação do toll-like receptor-2 (TLR-2) [26] (Figura 3). Está estabelecido que as HDL tornam-se disfuncionais depois de sofrerem modificações oxidativas mediadas, por exemplo, pela mieloperoxidase (MPO) e pela 15-lipoxigenase (15-LPO), duas enzimas sobre-reguladas na placa aterosclerótica. De facto, num modelo animal em que se induziu um dano elétrico numa artéria carótida, as HDL oxidadas pela MPO inibiram a reparação do endotélio, ao contrário das HDL não oxidadas [25]. Além disso, demonstrou-se que as HDL de indivíduos com CAD perdem as propriedades anti-inflamatórias e de reparação endotelial devido à deficiência de produção de óxido nítrico. Estas HDL induzem a produção de iões superóxido, aumentam a adesão de monócitos e reduzem a actividade da eNOS devido à ativação do *lecitin-like oxidized receptor-1* (LOX-1) e subsequente fosforilação da PKC-βII [25] (Figura 3). Estes estudos vêm reforçar o conceito de que a modificação oxidativa das HDL diminui as suas propriedades de proteção da aterosclerose, o que tem levado a interesse crescente no desenvolvimento de potenciais terapias que previnam a oxidação das HDL.

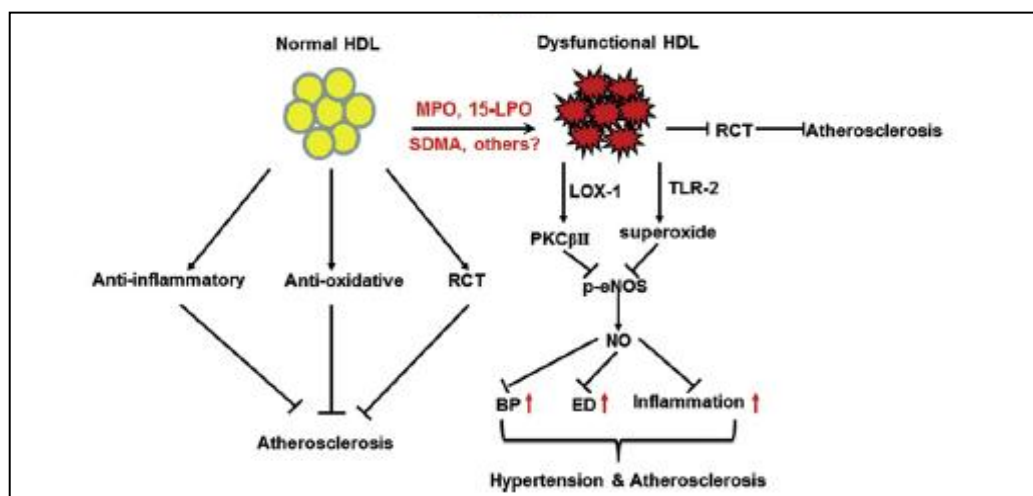


Figura 3 - Esquema representativo das funções biológicas das HDL funcionais e disfuncionais [25].

7. ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR AS HDL

Tendo em conta todas as potenciais funções das HDL, hipoteticamente poderiam ser muitas as estratégias para aumentar estas lipoproteínas. Até agora, duas classes de fármacos demonstraram ter algum efeito no aumento das HDL: o ácido nicotínico ou niacina e os fibratos. A primeira demonstrou ser mais efetiva em aumentar as HDL no plasma e a segunda demonstrou maior efetividade na diminuição dos elevados teores plasmáticos de triglicéridos, que estão, em geral, inversamente associados aos níveis de HDL [7]. O ácido nicotínico mostrou ser eficaz no

aumento dos teores plasmáticos de C-HDL através da indução hepática da produção de apoA-I e HDL e por inibição da captação e metabolismo das HDL no fígado [7,27]. Os fibratos são agonistas do *peroxissome proliferator-activated receptor-α* (PPAR-α), um fator de transcrição que regula a expressão de genes reguladores de muitas funções metabólicas, nomeadamente dos lípidos, e estimula a lipoproteína lipase [28].

Nos últimos anos, o estudo do metabolismo das HDL levou à conceção de fármacos capazes de interferir com o seu catabolismo, aumentar a expressão da apo A-I ou de mimetizar a sua actividade [7]. Na Figura 4 encontram-se representadas as potenciais formas de intervir no metabolismo lipídico de maneira a aumentar a concentração plasmática de HDL e/ou aumentar a sua funcionalidade, sendo que o cenário ideal seria o aumento da concentração de HDL associado a um aumento na sua funcionalidade [7].

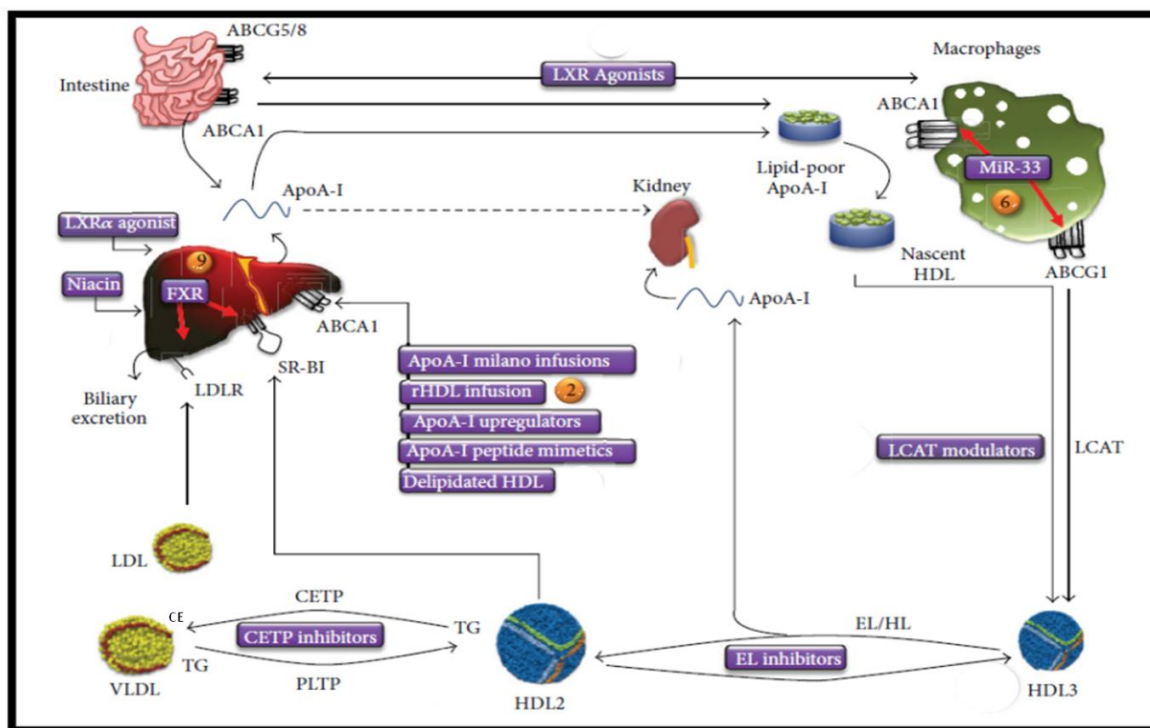


Figura 4 - Esquema das diferentes vias metabólicas das HDL e terapias em desenvolvimento [11].

8. TERAPIAS EM DESENVOLVIMENTO

8.1. INIBIDORES DA PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE ÉSTERES DO COLESTEROL

Como referido anteriormente, a CETP é a enzima envolvida na transferência de CE das partículas de HDL para as LDL e as VLDL. Além disso, ocorre também a transferência de TG das VLDL/LDL para as HDL formando HDL ricas em TG que, por sua vez, vão ser hidrolisadas pela

lipase hepática, que leva à sua transformação em HDL pequenas e ricas em TG, que são rapidamente eliminadas da circulação [7]. A prova de que a enzima CETP é importante para o metabolismo das HDL veio da descoberta de indivíduos com deficiência genética na CETP; estes indivíduos, com mutações em ambos os alelos do gene que codifica esta enzima, o que levava à perda da sua função, mostravam teores extremamente elevados de C-HDL. Além disso as suas HDL eram de grande tamanho e o turnover normal da apoA-I era significativamente reduzido [29]. Por outro lado, demonstrou-se que o desenvolvimento da aterosclerose estava associado a uma atividade aumentada da CETP. Todas estas observações levaram à formação da hipótese de que a inibição da CETP poderia ser uma ferramenta poderosa para aumentar o C-HDL, diminuir o colesterol das LDL e VLDL e, assim, reduzir o desenvolvimento da aterosclerose [7].

O primeiro inibidor da CETP desenvolvido foi o torcetrapib; no ensaio clínico em larga escala ILLUMINATE (já referido anteriormente), este fármaco não mostrou benefício clínico além de haver um aumento da mortalidade devido aos seus efeitos adversos [24]. O segundo, o dalcetrapib, um fraco inibidor da CETP, apesar de ter aumentado os teores de C-HDL em cerca de 31-40%, não demonstrou benefício clínico nos resultados cardiovasculares [11]. Atualmente, encontram-se outros dois destes fármacos em ensaios clínicos de fase III, o anacetrapib e o evacetrapib. O anacetrapib demonstrou aumentar o c-HDL sem afetar a pressão arterial. Num ensaio inicial randomizado com 1623 indivíduos com CAD, o tratamento com 100 mg de anacetrapib originou um aumento em 138% do C-HDL e uma redução em cerca de 40% do c-LDL. Um ensaio clínico que se encontra a decorrer pretende testar a hipótese de que a modificação lipídica com 100 mg diários de anacetrapib pode reduzir o risco de morte por doença coronária, em 30000 doentes com CVD ou diabetes que se encontram em tratamento com atorvastatina. Prevê-se que fique completo em 201 [11].

Os ensaios clínicos com o evacetrapib mostraram também um aumento substancial no C-HDL (cerca 54-129%) e uma redução em cerca de 14-36% nos teores de C-LDL, num determinado intervalo de doses de evacetrapib. No entanto, os efeitos deste fármaco nos eventos cardiovasculares encontram-se a ser testados no ensaio ACCELERATE (*Assessment of Clinical Effects of Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition with Evacetrapib in Patients at a High-Risk for Vascular Outcomes*) [11].

8.2. INIBIDORES DA LIPASE ENDOTELIAL

A inibição da lipase endotelial poderá uma das potenciais terapias de futuro com o objetivo de reduzir o catabolismo da apoA-I e aumentar os teores de apoA-I e de C-HDL [11]. A sobre-

expressão da lipase endotelial aumenta o catabolismo renal da apoA-I. Em humanos, a expressão dessa enzima foi inversamente correlacionada com os teores plasmáticos de C-HDL e positivamente relacionada com aterosclerose [30]. No entanto, a deficiência nessa lipase pode levar a uma acumulação de LDL pequenas e densas e, portanto, aumentar o potencial aterogénico. Foram desenvolvidos alguns inibidores da lipase endotelial derivados do ácido borónico com potencial para inibição também da lipoproteína lipase, mas estas terapias encontram-se ainda longe de ser usadas com benefício clínico [11].

8.3. MODULADORES DA LECITINA-COLESTEROL ACILTRANSFERASE (LCAT)

Uma das estratégias que está a ser investigada é o uso de uma proteína LCAT recombinante (rLCAT) como terapia de substituição no caso de deficiência de LCAT familiar. A falta de atividade desta enzima vai, de certa forma, bloquear a maturação das HDL e o transporte reverso do colesterol, pelo que poderá ser um potencial alvo de tratamento. Atualmente existem vários ensaios com esta terapia, mas ainda nenhum em humanos. Num ensaio em coelhos, administraram-se rLCAT e houve um aumento nos teores plasmáticos de C-HDL, aumento do colesterol excretado nas fezes e redução da aterosclerose [29].

8.4. MOLÉCULAS QUE AUMENTAM DIRETAMENTE AS HDL OU A APOLIPOPROTEÍNA A-I

Estas estratégias baseiam-se no aumento direto das HDL ou da apoA-I através da infusão de rHDL ou de partículas recombinantes de HDL na circulação, ao invés de aumentar indiretamente as HDL através da modulação do seu metabolismo. Estas terapias podem ser: apoA-I_{Milano} recombinante, apoA-I humana purificada, infusões de HDL deslipídadas e os indutores da produção endógena de apoA-I [11].

A apoA-I_{Milano} difere da apoA-I no aminoácido 173 em que tem uma cisteína e não uma arginina; foi descoberta num estudo coorte em indivíduos italianos que tinham uma baixa prevalência de aterosclerose, apesar de terem baixos teores plasmáticos de C-HDL (10-20 mg/dL). O ETC-216 é uma variante sintética de HDL, sendo um complexo da apoA-I_{Milano} com fosfolípidos, que demonstrou, num pequeno ensaio clínico, levar a uma redução significativa na extensão e volume do ateroma em doentes com síndrome coronário agudo (ACS). Recentemente, essa variante foi designada como MDCO-216, estando previsto o seu uso em grandes ensaios clínicos em breve [7].

O CSL-III é outra variante usada, que consiste na apoA-I purificada de plasma humano complexada com fosfatidilcolina. O primeiro grande ensaio clínico com este produto, foi o ERASE (*Effect of rHDL on Atherosclerosis Safety and Efficacy*) com 183 doentes com ACS, que receberam infusão diária de 40 mg/kg ou de 80 mg/kg de CSL-III. A dose diária de 80 mg/kg teve de ser descontinuada devido a problemas de segurança, pois provocou o aumento das transaminases hepáticas. Nos doentes que receberam 40 mg/kg diários, observou-se uma redução do volume de ateroma, embora não significativa comparativamente ao placebo [11,31]. Num estudo subsequente, em doentes com doença arterial periférica (PAD), demonstrou-se que uma infusão única de CSL-III originou uma redução significativa dos lípidos e da molécula de adesão VCAM-1 numa placa aterosclerótica analisada por aterectomia. Atualmente, uma reformulação desta variante, o CSL-112 com uma melhor capacidade de efluxo do colesterol e com menor hepatotoxicidade, encontra-se em ensaios de fase I [11].

Por outro lado, a infusão de HDL deslipidadas é outra estratégia que tem sido ensaiada e que se baseia em três passos essenciais: retirar amostra de plasma do doente por aférese, processo de remoção seletiva do colesterol das partículas α -HDL convertendo-as em pré- β HDL funcionais e posterior infusão destas partículas no próprio indivíduo. Num ensaio clínico em 28 indivíduos com ACS no qual se aplicou este processo durante 5 semanas, observou-se que o aumento das partículas pré- β HDL foi associado a um decréscimo no volume de ateroma em cerca de 5,2%, no entanto não foi demonstrado estar associado a uma diminuição nos eventos cardiovasculares [11].

No que diz respeito aos indutores da produção endógena de apoA-I, refere-se o Resvelogix-208 (RVX-208) que é uma pequena molécula que aumenta a produção da apoA-I através da indução da transcrição do gene que a codifica. Em ensaios em animais, esta molécula demonstrou aumentar os teores plasmáticos de apoA-I e de C-HDL. Em humanos, esta demonstrou aumentar o efluxo de colesterol dos macrófagos, apesar de provocar apenas um modesto aumento no C-HDL [11]. Os efeitos deste produto na aterosclerose encontram-se a ser avaliados num ensaio clínico através da técnica de ultrassons intravasculares (IVUS) [1].

8.5. MOLÉCULAS QUE MIMETIZAM A FUNÇÃO DAS HDL

Estas moléculas são constituídas por pequenos peptídeos concebidos para mimetizar a função da apoA-I [7]. Em estudos em animais, os miméticos da apoA-I demonstraram inúmeras vantagens: promoção do efluxo do colesterol dos macrófagos, ativação da enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) e estimulação da captação do colesterol no fígado via SR-BI

[31]. Estas moléculas demonstraram não aumentar significativamente o C-HDL no plasma, no entanto mostraram vários benefícios, tais como o aumento da função endotelial, a redução do recrutamento e adesão de monócitos, bem como a diminuição da peroxidação lipídica e do stresse oxidativo [31].

Existem vários miméticos da apoA-I em desenvolvimento mas o mais estudado em termos clínicos é o 4F, constituído por 18 aminoácidos. Num ensaio clínico de fase I, com 50 indivíduos com doença arterial coronária, o D-4F não provocou alterações significativas nos teores plasmáticos de C-HDL nem de apoA-I; no entanto, houve um decréscimo relevante no índice inflamatório das HDL. Este parâmetro é medido *in vitro* com base na capacidade com que as HDL inibem a atividade quimiotática dos monócitos induzida pelas LDL oxidadas [31]. Sendo assim, o D-4F poderá ser dos primeiros a ser testado com o objetivo principal de aumentar a funcionalidade das HDL e não os teores plasmáticos de C-HDL [29].

8.6. AGONISTAS DOS RECETORES LXR

Os agonistas sintéticos do *liver-X receptor* (LXR), incluindo os LXR α/β , são conhecidos por induzir a transcrição dos genes que codificam os transportadores ABCA1 e ABCG1, podendo assim ser usados como potenciais ativadores do efluxo do colesterol dos macrófagos. O desenvolvimento da primeira geração de agonistas do LXR falhou por originar o aumento dos teores plasmáticos de TG e provocar esteatose hepática [11]. Tendo em conta que apenas o LXR α foi associado a este fenómeno, a atenção foi dirigida para o desenvolvimento de agonistas seletivos para o LXR β , o que se encontra atualmente em investigação [7]. Uma segunda estratégia é promover a ativação do LXR apenas a nível intestinal, surgindo o agonista LXR α/β GW3965 que promove o transporte reverso do colesterol especificamente nos macrófagos, produção intestinal de HDL e excreção de colesterol o que sugere que o agonismo do LXR intestinal promove o RCT sem provocar toxicidade hepática [7]. Muitos outros agonistas do LXR foram desenvolvidos e testados em animais revelando bons resultados no aumento do RCT e na regressão da placa aterosclerótica, indicando que esta estratégia poderá ter no futuro benefícios clínicos [7].

8.7. TERAPIA GÉNICA

A terapia génica já tem sido estudada e usada em algumas situações de distúrbios lipoproteicos graves, demonstrando um sucesso limitado na hipercolesterolemia familiar homozigótica [11]. Um potencial mecanismo para aumentar os teores plasmáticos de HDL é aumentar a expressão dos transportadores ABCA1 e ABCG1 através o micro-RNA (inibição do

miR-33, como já foi referido no ponto 4.1). Num estudo em primatas, com a utilização de um oligonucleótido antisense miR-33, obteve-se um aumento no C-HDL em cerca de 30% [11]. Com a sobre-expressão de miR-33 antisense, usando lentivírus em ratinhos, demonstrou-se um aumento na expressão de ABCA1 hepático em cerca de 50%, com o aumento concomitante do C-HDL em 25%, após 6 dias. Estes dados sugerem que o miR-33 poderá vir a ser um alvo para o tratamento de doenças cardiovasculares e metabólicas [11].

9. CONCLUSÃO

As partículas de HDL têm um largo espectro de funções protetoras contra a aterosclerose, sendo que as suas funções mais importantes são: o transporte reverso do colesterol ou efluxo de colesterol dos macrófagos, as suas propriedades antioxidantes e a função endotelial vascular, em que através de várias propriedades, as HDL têm a capacidade de proteger as células do endotélio vascular dos danos que podem levar ao desenvolvimento da aterosclerose.

Os resultados obtidos em diversos ensaios clínicos nos quais, de uma forma geral, o aumento do C-HDL não se refletiu na prevenção das doenças cardiovasculares, vieram questionar a *HDL hypothesis*. Além disso, alguns estudos demonstraram que as partículas de HDL pequenas e sem colesterol são mais efetivas do que as partículas de HDL de maiores dimensões, ricas em colesterol, no exercício das suas funções preventivas, podendo concluir-se que o foco que atualmente existe no valor plasmático de C-HDL como alvo terapêutico, terá de ser desviado [8].

Nesse sentido, já muitos investigadores dirigiram a sua atenção para o estudo da funcionalidade das HDL e para as possíveis formas de avaliação dessa capacidade, por forma a chegar ao desenvolvimento de fármacos, de facto, anti-aterogénicos, bem como à definição de biomarcadores mais específicos para a identificação, o possível tratamento personalizado e a monitorização dos doentes de alto risco [14]. Para resolver estes problemas, uma estratégia seria uma “ferramenta” que permitisse a recolha dos dados sobre o proteoma, o lipidoma e a funcionalidade das HDL sob diferentes condições patológicas e uma subsequente integração informática [14]. De facto, o estudo aprofundado das alterações que possam ocorrer nas partículas de HDL será importante para o desenvolvimento de terapias que previnam a ocorrência dessas mesmas modificações funcionais [25].

Desta forma, apesar dos resultados pouco consistentes obtidos até agora, o desenvolvimento de terapias baseadas nas funções protetoras das HDL continua a ser promissor. É necessário continuar a investigação, sendo que os dados, até à data, levam-nos a concluir que as terapias que aumentam o transporte reverso do colesterol, mais especificamente, o efluxo do

colesterol dos macrófagos, aumentando a síntese *de novo* das HDL, bem como as infusões de HDL reconstituídas, podem ser as terapias mais eficientes [14].

BIBLIOGRAFIA

- [1] Toth P. P., Barter P. J., Rosenson R. S., Boden W. E., Chapman M. J., Cuchel M., D'Agostino R. B., Davidson M. H., Davidson W. S., Heinecke J. W., Karas R. H., Kontush A., Krauss R. M., Miller M., and Rader D. J., "High-density lipoproteins: a consensus statement from the National Lipid Association". **Journal of clinical lipidology** (2013), 484–525.
- [2] Tonkin A. and Byrnes A., "Treatment of dyslipidemia," **F1000Prime Reports** (2014), 6:(42).
- [3] Burnet J., "Coronary Artery Disease: Lipid Metabolism," In **Clinical Chemistry, Theory, Analysis, Correlation**, Edit. By Kaplan L. A. and Pesce A. J, 691–728, Mosby Elsevier (2010).
- [4] Manjunath C. N, Rawal J. R., Irani P. M., and Madhu K., "Atherogenic dyslipidemia". **Indian journal of endocrinology and metabolism** (2013), 969–76.
- [5] Cho D. J., Cho Y. and Rosenson R. S., "Endothelial Shear Stress and Blood Viscosity in Peripheral Arterial Disease". **Current Atherosclerosis Reports** (2014), 16(4):404.
- [6] Brito P., "Papel do resveratrol no contexto da prevenção da aterosclerose: mecanismos moleculares envolvidos na apoptose e proliferação celular". Dissertação de Doutorado, **Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra** (2007).
- [7] Pirillo A., Norata G. D, and Catapano A. L., "Treating high density lipoprotein cholesterol (HDL-C): quantity versus quality". **Current pharmaceutical design** (2013), 3841–57.
- [8] Rosenson R. S., Brewer H. B., Ansell B., Barter P., Chapman M. J., Heinecke J. W., Kontush A., Tall A. R. and Webb N. R., "Translation of high-density lipoprotein function into clinical practice: current prospects and future challenges". **Circulation** (2013), 1256–67..
- [9] Rosenson R. S., Brewer H. B., Chapman M. J., Fazio S., Hussain M. M., Kontush A., Krauss R. M., Otvos J. D., Remaley A. T., and Schaefer E. J., "HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events". **Clinical chemistry** (2011), 392–410.
- [10] Camont L., Chapman M. J., and Kontush A., "Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease". **Trends in molecular medicine** (2011), 594–603.
- [11] Hafiane A. and Genest J., "HDL, Atherosclerosis, and Emerging Therapies". **Cholesterol** (2013), on line, 18 pg (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/891403>).
- [12] Fernández-hernando C., Suárez Y., Rayner K. J., and Moore K. J., "MicroRNAs in lipid metabolism". **Current Opinion Lipidology** (2011), 86–92.
- [13] Wang X., Collins H. L., Ranalletta M., Fuki I. V, Billheimer J. T., Rothblat G. H., Tall A. R., and Rader D. J., "Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo". **The Journal of Clinical Investigation** (2007), 117(8):2216-24.
- [14] Annema W. and Eckardstein A. von, "High-Density Lipoproteins - Multifunctional but Vulnerable Protections from Atherosclerosis". **Circulation Journal** (2013), 2432–2448.
- [15] Malaval C., Laffargue M., Barbaras R., Rolland C., Peres C., Champagne E., Perret B., Tercé F., Collet X., and Martinez L. O., "RhoA/ROCK I signalling downstream of the P2Y13 ADP-receptor controls HDL endocytosis in human hepatocytes". **Cellular signaling** (2009)120–127.
- [16] Nofer J.R., Brodde M. F., and Kehrel B. E., "High-density lipoproteins, platelets and the pathogenesis of atherosclerosis". **Clinical and experimental pharmacology & physiology** (2010), 726–35.

- [17] Riwanto M., Rohrer L., Roschitzki B., Besler C., Mocharla P., Mueller M., Perisa D., Heinrich K., Altwegg L., Eckardstein A. von, Lüscher T. F., and Landmesser U., “Altered activation of endothelial anti- and pro-apoptotic pathways by high-density lipoprotein from patients with coronary artery disease: role of high-density lipoprotein-proteome remodeling”. **Circulation** (2013), 891–904.
- [18] Panzenböck U. and Stocker R., “Formation of methionine sulfoxide-containing specific forms of oxidized high-density lipoproteins”. **Biochimica et biophysica acta** (2005), 171–181.
- [19] Assmann G., Schulte H., Eckardstein A. von, and Huang Y., “High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport”. **Atherosclerosis** (1996), 124 Suppl:S11–20.
- [20] Rubins H., Robins S., Collins D., Fye C., Anderson J., Elam M., and Faas F., “Gemfibrozil For The Secondary Prevention Of Coronary Heart Disease In Men With Low Levels Of High-Density Lipoprotein Cholesterol,” **New England Journal of Medicine** (1999) 410–418.
- [21] Taylor A., Villines T., Stanek P., Griffen L., Miller M., Weissman N. J., and Turco M., “Extended-Release Niacin or Ezetimibe and Carotid Intima–Media Thickness”. **New England Journal of Medicine** (2009), 2113–2122.
- [22] Nicholls S. J., “The AIM-HIGH (Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome with Low HDL/High Triglycerides: Impact on Global Health Outcomes) trial: to believe or not to believe?” **Journal of the American College of Cardiology** (2012), 2065–2067.
- [23] Sanyal K. R., Kuvin J.T., “Niacin and laropiprant”. **Drugs of Today (Barc)** (2010), 46(6):371–378.
- [24] Tall A. R., Yvan-Charvet L., and Wang N., “The failure of torcetrapib: was it the molecule or the mechanism?” **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology** (2007), 257–60.
- [25] Xu S., Liu Z., and Liu P., “HDL cholesterol in cardiovascular diseases: the good, the bad, and the ugly?” **International journal of cardiology** (2013), 3157–9.
- [26] Speer T., Rohrer L., Blyszczuk P., Shroff R., Kuschnerus K., Kränkel N., Kania G., Zewinger S., Akhmedov A., Shi Y., Martin T., Perisa D., Winnik S., Müller M. F., Sester U., Wernicke G., Jung A., Gutteck U., Eriksson U., Geisel J., Deanfield J., Eckardstein A. von, Lüscher T. F., Fliser D., Bahlmann F. H., and Landmesser U., “Abnormal high-density lipoprotein induces endothelial dysfunction via activation of Toll-like receptor-2”. **Immunity** (2013), 754–68.
- [27] Lamon-Fava S., Diffenderfer M. R., Barrett P. H. R., Buchsbaum A., Nyaku M., Horvath K. V., Asztalos B. F., Otokozawa S., Ai M., Matthan N. R., Lichtenstein A. H., Dolnikowski G. G., and Schaefer E. J., “Extended-release niacin alters the metabolism of plasma apolipoprotein (Apo) A-I and ApoB-containing lipoproteins”. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology** (2008), 1672–8.
- [28] Pang J., Chan D. C., and Watts G. F., “Critical review of non-statin treatments for dyslipoproteinemia”. **Expert review of cardiovascular therapy** (2014), 359–71.
- [29] Rader D. J., “Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies”. **The Journal of Clinical Investigation** (2006), 3090–3100.
- [30] Rosenson R. S., Brewer H. B., Davidson W. S., Fayad Z., Fuster V., Goldstein J., Hellerstein M., Jiang X. C., Phillips M. C., Rader D. J., Remaley, G. H. Rothblat A. T., Tall A. R., and Yvan-Charvet L., “Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport”. **Circulation** (2012), 1905–19.
- [31] Joy T. R., “Novel HDL-based therapeutic agents”. **Pharmacology & therapeutics** (2012), 18–30.