

Acção imunomoduladora dos fármacos hipolipemiantes

The immunomodulating action of lipid-lowering drugs

Pereira de Moura*

Resumo

A doença aterosclerótica é a principal causa de morte nos países desenvolvidos e, subjacente à sua patogénese, parece estar uma reacção do vaso a uma qualquer agressão física, química, infecciosa ou imunológica. Seja qual for o factor responsável pela agressão, os mecanismos inflamatórios e imunológicos exercem um papel primordial na ampliação e manutenção do processo aterogénico. De todos os factores de risco conhecidos, o aumento do colesterol sérico, nomeadamente da sua fracção LDL, constitui um dos mais importantes, admitindo alguns autores que muitos dos outros factores de risco só actuarão quando simultaneamente existir uma hipercolesterolemia. Assim, os fármacos hipocolesterolémicos têm um papel central na prevenção e no tratamento da doença cardiovascular, como atestam diversos ensaios de prevenção primária e secundária. Para além do seu efeito a nível dos lípidos, os diversos hipolipemiantes, particularmente as estatinas e os fibratos, apresentam diversas acções a nível dos mecanismos inflamatórios e imunes que, embora não completamente esclarecidos, se revestem do maior interesse terapêutico. O presente artigo procura fazer uma revisão sobre as acções anti-inflamatórias e imunológicas dos diferentes fármacos hipolipemiantes, particularmente das estatinas, dos fibratos e do probucol.

Palavras chave: *Aterosclerose, doença cardiovascular, inflamação, imunidade, hipolipemiantes*

Abstract

Atherosclerosis is the principal cause of death in developed countries. Integral to the process there seems to be a reaction of the vessel to an aggression,

be it physical, chemical, infectious or immunologic. Whatever the factor responsible for the aggression, inflammatory and immune responses exert a primordial role in the amplification and maintenance of the atherogenic process. Of all the known risk factors, a raised serum cholesterol, particularly the LDL fraction, is one of the most important. Certain authors believe that many of the other risk factors only become important in the presence of hypercholesterolaemia. Therefore, pharmacological agents which lower cholesterol have a central role in the prevention and treatment of cardiovascular disease, as has been proved in a number of clinical, primary and secondary, prevention trials.

Apart from their effect on lipid levels, the different lipid-lowering drugs, particularly the statins and the fibrates, have a number of actions on inflammatory and immune mechanisms, which, while not completely understood, are of great therapeutic interest. This article presents a revision of the anti-inflammatory and immunologic actions of the different lipid-lowering drugs, particularly the statins, the fibrates and probucol.

Key words: *Atherosclerosis, cardiovascular disease, inflammation, immunity, lipid-lowering drugs*

Introdução

Presentemente a aterosclerose é considerada uma resposta imune/inflamatória ou cicatricial da íntima arterial a qualquer agressão. Ross, em 1973, foi quem pela primeira vez sintetizou a hipótese de “resposta à agressão”; ela tenta conciliar a teoria de Rokitansky, que sugeria a deposição de fibrina seguida da acumulação lipídica como mecanismo da aterogénese, com as ideias de Virchow, que admitia ser a deposição lipídica o mecanismo *major* da aterogénese. Segundo Ross, qualquer forma de agressão à parede da artéria, associada com uma resposta inflamatória, dava origem ao que ele considerava a lesão degenerativa.

Actualmente o modelo de desnudação traumática endotelial, foi substituído por formas mais subtis de lesão, que se caracterizam pela modelação da função endotelial sem perda de células; a lesão mais precoce parece desenvolver-se sob o endotélio estruturalmente intacto, com o aumento da adesão dos monócitos circulantes ao endotélio como resposta precoce à hipercolesterolemia. A entrada dos monócitos para o espaço subendotelial, origina a formação das “foam-cells”. Para além da dislipidemia, outros factores que contribuem para o início e progressão da lesão, são a hipertensão, o tabagismo, os mecanismos imunológicos e infecciosos. Todos estes fenómenos conduzem à formação da placa aterosclerótica, lesão inflamatória

* Assistente Hospitalar Graduado de Medicina Interna
Serviço de Medicina 2 dos Hospitais da Universidade de Coimbra
Recebido para publicação a 06/07/2001

crônica, podendo ser convertida num evento clínico agudo pela ruptura da placa e consequente trombose.

Os mecanismos inflamatórios e imunológicos da aterogênese

A ideia de aterosclerose como uma doença inflamatória foi avançada pela primeira vez no século XIX, mas as maiores evidências para suportar esta teoria surgiram com os estudos com microscopia de luz, em 1960, quando se demonstrou a existência de células “lymphocyte-like”, na adventícia das artérias ateromatosas; o desenvolvimento das técnicas de imuno-histoquímica permitiu confirmar a presença de linfócitos T na placa e a análise quantitativa revelou que estas células constituíam cerca de 20% da celularidade total¹.

As células T e os macrófagos entram na íntima em resposta à expressão de factores quimiotácticos, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP) e de moléculas de adesão, *vascular cell adhesion molecule-1* e *intercellular adhesion molecule-1* (VCAM-1, ICAM-1) pelo endotélio vascular^{2,3,4}. Como é sabido, a migração dos macrófagos para o espaço subendotelial e a sua transformação em células gordas, pela acumulação de colesterol no seu interior, constitui uma das principais e mais precoces etapas da aterogênese. A placa aterosclerótica avançada contém uma mistura de células musculares lisas, macrófagos e linfócitos T^{2,4}. Destas últimas, as CD4 encontram-se em maiores quantidades do que as CD8, numa proporção de, aproximadamente, 2:1². Diversas moléculas envolvidas na apresentação dos antígenos aos linfócitos T têm sido igualmente identificadas nas placas: moléculas do complexo de histocompatibilidade (HLA) e integrinas, assim como anticorpos, interleucinas e factores de crescimento^{2,3,4}. Diversas evidências apontam para a existência de uma interacção entre as células T e os macrófagos na parede vascular: os linfócitos T produzem IFN gama, que activa os macrófagos; estes, por sua vez, produzem IL-12, que estimula a produção de IFN gama pelos linfócitos T. Também diversas moléculas receptoras de superfície, tais como o CD40L / CD 40 e o LFA-1 / ICAM-1, estão envolvidas na interacção entre os dois tipos de células^{2,3,4}.

Diversos antígenos têm sido responsabilizados pelo desencadear das respostas imunes e inflamatórias a nível da placa; presentemente os mais estudados têm sido as lipoproteínas oxidadas (Ox-LDL), as *heat shock proteins* (HSP) e diversos antígenos virusais e bacterianos^{1,2,3,5,6}.

As Ox-LDL contêm epítomos para as células T e B, capazes de desencadear respostas imunes adaptativas; por seu lado, os compostos lipídicos gerados durante a peroxidação estimulam os mecanismos da imunidade inata^{1,2}. A lisofosfatidilcolina, fruto da peroxidação da fosfatidilcolina, é fortemente pró-inflamatória, induzindo as células endoteliais a produzir e expressar o VCAM-1, molécula que promove a adesão dos monócitos e das células T à super-

fície endotelial; por outro lado, a lisofosfatidilcolina tem capacidade para activar os macrófagos e induzir a sua proliferação^{1,2}. As LDL oxidadas possuem diversos lípidos bioactivos; os oxisteróides, produtos da oxidação do colesterol, reduzem a expressão da lipoproteína-lipase a nível dos macrófagos, promovem a activação do complemento e a libertação de MCP-1. Os aldeídos possuem igualmente actividade quimiotáctica para os monócitos. Curiosamente as Ox-LDL podem inibir a activação dos macrófagos, interferindo com o NF-kB (factor de transcrição com papel central na indução da inflamação por activação da transcrição de um grande número de genes – moléculas de adesão, factores de crescimento, citocinas e diversos enzimas)^{1,2,3,5,6}.

A apoproteína das Ox-LDL, a apoB 100, possui igualmente diversos epítomos responsáveis pela activação da resposta imune adaptativa^{1,2}.

Um outro grupo de epítomos, produto da peroxidação das LDL, é o grupo dos fosfolípidos oxidados, que desencadeia a produção dos anticorpos anti-fosfolípidos. Para alguns autores, a concentração destes anticorpos correlaciona-se com a doença aterosclerótica periférica².

Títulos elevados de auto-anticorpos anti Ox-LDL encontram-se quer em humanos quer em animais de experimentação com doença aterosclerótica. Segundo alguns trabalhos, os títulos destes anticorpos são preditivos da progressão da doença em pacientes com doença aterosclerótica, embora outros estudos não tenham conseguido confirmar esta associação^{1,2}.

As células apresentadoras do antígeno, tais como os macrófagos, as células endoteliais e as células dendríticas foliculares dos gânglios linfáticos expressam receptores “scavenger” para as Ox-LDL; dado que as células dendríticas foliculares são especializadas na apresentação dos antígenos às células B, a expressão dos receptores “scavenger” do tipo A (SR-A) sobre estas células representa, muito provavelmente, um mecanismo capaz de desencadear uma forte resposta das células B às Ox-LDL².

Outras moléculas com propriedades ateroantigénicas são as HSP; como são essencialmente moléculas intracelulares, a sua saída para o espaço extracelular devido à lesão tissular induz uma forte resposta auto-imune. Uma destas proteínas, a HSP60, é sintetizada pelas células endoteliais e pelas células musculares lisas após lesão tissular, desencadeando a produção de auto-anticorpos e a subsequente formação de imunocomplexos, com agravamento da lesão tissular; estes fenómenos podem estar envolvidos nos estádios mais precoces da aterogênese^{1,2,3}.

Por sua vez, o papel dos microrganismos na aterogênese permanece controverso; os vírus da família herpes, o citomegalovírus, o *Helicobacter pylori* e a *Chlamydia pneumoniae*, todos têm sido responsabilizados pelo desencadear de respostas imunes a nível da parede vascular, podendo assim estar envolvidos na promoção e manutenção

da aterogénese. A infecção experimental com citomegalovírus está associada com uma resposta inflamatória no lúmen da aorta e a *Clamydia pneumoniae*, um agente patogénico respiratório humano responsável por cerca de 10% das pneumonias adquiridas na comunidade, tem estado associado com doença arterial coronária, sugerindo que a *Clamydia* possa estar envolvida no processo de aterogénese. Um estudo encontrou uma associação entre o *Helicobacter pylori* e a doença cardíaca isquémica, embora outros trabalhos não tenham conseguido demonstrar essa associação^{1,2,7,8}.

Para além da sua acção promotora da aterogénese, os mecanismos inflamatórios e imunes estão igualmente envolvidos num fenómeno extremamente importante da doença cardiovascular – a ruptura da placa. Com efeito, diversos estudos de placas humanas sugerem que as citocinas induzem a apoptose das células musculares lisas, reduzem a expressão do colagénio e estimulam a produção de metaloproteinases, com a consequente perda de estabilidade da placa e a sua propensão para a ruptura e trombose^{1,2}.

Um fenómeno interessante e que parece contrariar os mecanismos desencadeadores da doença aterosclerótica descritos até agora, é o facto do INF gama, citocina produzida pelos linfócitos Th1, inibir a expressão da metaloproteinase induzida pelo IL-1 e do *tumor necrosis factor alpha* (TNF-alfa)² Este facto pode significar que, na resposta imune aos diversos ateroantígenos, alguns dos mecanismos possam contrariar os efeitos nefastos sobre a estabilidade da placa. Esta hipótese “protectora” é apoiada por alguns estudos sobre a indução da sintase do óxido nítrico (NO) na parede da artéria; a isoforma da sintase do NO induzível encontra-se na placa aterosclerótica humana e é rapidamente induzida nas células musculares lisas arteriais, após lesão endotelial provocada por cateter, na artéria carotídea do rato; isto provoca um aumento na produção e libertação do NO, com a consequente redução do tónus vascular e da agregabilidade plaquetar².

Os fármacos hipolipemiantes

Diversos estudos têm demonstrado, de uma forma inequívoca, uma redução da morbi-mortalidade por doença cardiovascular, com a utilização de fármacos hipolipemiantes, quer em estudos de prevenção primária (estatinas) quer secundária (estatinas e fibratos). Vários autores têm chamado a atenção para o facto de que as acções a nível dos lípidos, embora tendo muito provavelmente a maior quota de responsabilidade nesta redução da doença cardiovascular, não serão os únicos efeitos exercidos pelos fármacos hipolipemiantes; acções anti-inflamatórias e imunomoduladoras, algumas não dependentes da redução dos lípidos, estão subjacentes à acção dos diversos fármacos hipolipemiantes, multiplicando-se os trabalhos que procuram evidenciar estes factos de relevante acção terapêutica⁹⁻¹⁵.

ESTATINAS – A introdução em 1987 da lovastatina constituiu um marco fundamental na terapêutica das dislipidemias e da profilaxia/terapêutica da doença vascular; alguém disse que as estatinas estão para as dislipidemias como a penicilina para as infecções bacterianas! A sua acção farmacológica principal é através da inibição reversível e competitiva da reductase da HMG-CoA, enzima do retículo endoplásmico que catalisa a conversão de HMG-CoA em mevalonato, limitando a síntese endógena do colesterol. Ao reduzir o colesterol intracelular, as estatinas provocam um aumento do número e função dos receptores LDL a nível da membrana. Para além deste importante efeito hipolipemiante, as estatinas poderão ter outras acções não menos decisivas na sua capacidade de prevenir os eventos cardiovasculares! De entre estas iremos focar a nossa atenção essencialmente nas suas actividades imunomoduladoras.

Recordando rapidamente a síntese do colesterol, a etapa que se segue à síntese do mevalonato é a formação de unidades isoprenóides a partir da fosforilação do mevalonato pelo ATP, para formar vários intermediários fosforilados activos; através de uma descarboxilação é formado o isopentenilpirofosfato. A condensação de moléculas de isopentenilpirofosfato origina, primeiro, uma molécula de geranylpirofosfato e, posteriormente, de farnesilpirofosfato. Dois enzimas críticos intervêm nestas reacções, que são a geranylpirofosfato sintetase e a farnesilpirofosfato sintetase. Assim, ao interferir com o enzima reductase da HMG-CoA, as estatinas inibem não só a síntese do mevalonato e do colesterol mas igualmente de diversos metabolitos intermediários, como é o caso dos isoprenóides (farnesil e geranylpirofosfato). A importância deste facto, para além do seu efeito hipolipemiante, será objecto das considerações que se seguem.

Já em 1995 se chamava a atenção para o facto de os doentes transplantados cardíacos e que, por motivo da sua dislipidemia, eram tratados com pravastatina, apresentarem menor incidência de rejeição e melhoria da sobrevivência, fazendo suspeitar que a pravastatina possuiria propriedades “imunotolerantes”¹⁶! Num interessante trabalho publicado em 1998, avaliou-se a citotoxicidade das células “natural-killer” em doentes transplantados cardíacos e tratados com ciclosporina e pravastatina; os autores demonstraram que a ciclosporina e a pravastatina actuaram sinergisticamente na redução da actividade citotóxica dos linfócitos T¹⁷. Diversos trabalhos apontam para a existência de uma acção a nível dos fenómenos inflamatórios e imunes por parte das diferentes estatinas^{9,12,14,15,17,18}.

Num trabalho de Maggard et al. de 1998, os autores avaliaram a acção imunomoduladora da pravastatina, num modelo de transplante cardíaco no rato; concluíram que esta estatina inibiu a síntese e subsequente degradação das proteínas da matriz extracelular e bloqueou a infiltração do enxerto pelos macrófagos, enfatizando assim um

papel primordial da pravastatina na inibição dos fenómenos de rejeição¹⁹!

Num estudo publicado em Janeiro de 2001, os autores avaliaram o efeito da simvastatina sobre a expressão da classe II do complexo de histocompatibilidade *major* (MHC II)²⁰; estas moléculas MHC II estimulam a activação dos linfócitos T na resposta imune após transplante cardíaco, estando estas células envolvidas no fenómeno da rejeição. Neste estudo a simvastatina reduziu a expressão da MHC II em células endoteliais humanas, estimuladas pelo INF gama, sendo esta acção dependente da redução dos níveis do CIITA (coactivador transcripcional e regulador da expressão constitutiva e induzida do MHC II). Concluíram os autores ser este efeito da simvastatina altamente benéfico no transplante cardíaco, nomeadamente na redução da rejeição²⁰. Outros investigadores chegaram a conclusões semelhantes sobre a acção das estatinas a nível das moléculas MHC II, em células endoteliais e nos monócitos/macrófagos humanos, admitindo que estes mecanismos possam permitir que as estatinas venham a ser utilizadas como imunossuppressores nos doentes transplantados ou com outras patologias²¹.

Num outro trabalho e num grupo de doentes hipercolesterolémicos, dos dois sexos, a pravastatina nas doses de 40 mg/dia e durante sete semanas, para além dos seus efeitos hipolipemiantes, reduziu a concentração do TNF-alfa e da IL-6 em 31 e 26% respectivamente; estas citocinas foram determinadas no sangue periférico após estimulação com lipopolissacárido (LPS)¹². Segundo os autores, como o LPS se liga às lipoproteínas plasmáticas e estas viram reduzidas as suas concentrações com o tratamento, seria de esperar que mais LPS livre e capaz de estimular as citocinas se encontrasse em circulação; como o que se verificou foi precisamente uma redução dos níveis do TNF-alfa e da IL-6, os autores concluíram que este efeito a nível das citocinas pró-inflamatórias não poderia ser explicado pelas acções hipolipemiantes da pravastatina¹²! Também num grupo de doentes sobreviventes de enfarte agudo do miocárdio (CARE), os indivíduos randomizados para tratamento com pravastatina, viram reduzidos significativamente os seus níveis de proteína-c-reactiva (PCR)²²; a redução deste marcador inflamatório foi independente da magnitude das alterações lipídicas associadas ao tratamento com esta estatina, assim como da idade, do índice de massa corporal, dos hábitos tabágicos ou da pressão arterial²². Num outro trabalho, os autores trataram trinta indivíduos com 20 mg de simvastatina versus vinte e sete tratados com acipimox, durante três meses¹⁵; todos apresentavam uma hiperlipidemia e uma diabetes tipo 2. Os autores determinaram as concentrações da PCR no início e no fim do tratamento; depois dos três meses de terapêutica, as concentrações da PCR foram significativamente reduzidas no grupo da simvastatina mas não no grupo do acipimox¹⁵. Os autores do trabalho concluíram dizendo que os efeitos da

estatina sobre a PCR eram independentes dos efeitos hipolipemiantes e que eram mais significativos nos pacientes que apresentavam valores mais elevados de PCR antes do tratamento¹⁵. Num outro estudo, Ikeda e col. partindo do pressuposto que os monócitos e os linfócitos T são as principais fontes de produção das citocinas, nomeadamente em resposta ao LPS, investigaram os efeitos das estatinas (fluvastatina e lovastatina) sobre a produção de IL-6 pela linha de monócitos humanos THP-1; a adição do LPS aumentou a produção da IL-6 pelos monócitos e as estatinas impediram significativamente esta secreção LPS-induzida da IL-6¹⁴. Os investigadores concluíram que as estatinas terão um efeito anti-inflamatório directo sobre os monócitos e macrófagos. Num outro trabalho, desta vez com a simvastatina nas doses de 20 mg/dia, verificou-se igualmente a redução da expressão do TNF-alfa e da IL-1 nos monócitos de pacientes hipercolesterolémicos, após tratamento com esta estatina²³.

Num curioso estudo em que se utilizou o grau de edema da pata do rato como avaliação da resposta a um estímulo inflamatório, a simvastatina mostrou ter uma forte actividade anti-inflamatória; de realçar que esta actividade começou com doses de 3 mg/Kg de peso e, com doses crescentes, conseguiu-se uma supressão da inflamação, comparável à da indometacina¹⁸; no mesmo trabalho, realizado em ratos não responsivos aos efeitos hipolipemiantes da simvastatina (ratos deficientes em apo E), verificou-se uma redução da acumulação do colesterol a nível da artéria aórtica. Os autores concluem realçando a acção anti-inflamatória da simvastatina e a sua acção anti-aterosclerótica independente dos efeitos hipolipemiantes¹⁸.

Para além dos trabalhos em que se avalia a acção das estatinas na produção das diversas citocinas, outros estudos têm investigado as possíveis acções que os inibidores da HMG-Co A reductase terão em relação a outras moléculas envolvidas nos fenómenos inflamatórios, como é o caso das integrinas. Uma destas moléculas, a LFA-1, requer a activação por estímulos intracelulares para a sua ligação de alta afinidade aos seus contra-receptores na superfície das células endoteliais e das células apresentadoras dos antigénios⁹. A ligação do LFA-1 a moléculas como sejam o ICAM 1, 2 e 3 está associada a funções de extrema importância nos fenómenos inflamatórios e imunes – a adesão dos leucócitos à superfície do endotélio e a sua posterior migração, e a apresentação dos antigénios pelos macrófagos às células T⁹. A LFA-1 como as restantes integrinas possui uma cadeia alfa constituída por diferentes módulos de 200 aminoácidos, os chamados domínios-I; estes domínios serão os responsáveis pela especificidade das diferentes integrinas⁹. Um trabalho de J. Kallen e colaboradores demonstrou que a lovastatina, através do seu anel lactona, inibiu a LFA-1 ligando-se ao seu domínio-I⁹. Num outro estudo procurou-se avaliar se os inibidores da reductase da HMG CoA tinham algum efeito so-

bre a expressão de uma outra integrina, a CD11b, presente na superfície dos monócitos e responsável pela interacção destas células com as células endoteliais, através da sua ligação ao ICAM-1²⁴. Neste trabalho, os autores referem que as moléculas isoprenóides (intermediários da síntese do colesterol e inibidos igualmente pelas estatinas) modificam pós-translacionalmente várias proteínas assim como as interacções dessas proteínas com a membrana celular e com outras proteínas²⁴. As proteínas heterotriméricas constituem umas dessas proteínas isopreniladas, estando envolvidas nas interacções das integrinas com os receptores ICAM, activando a ligação dos leucócitos ao endotélio²⁴. Assim, ao reduzir a síntese das moléculas isoprenóides, as estatinas impedem a isoprenilação de diversas proteínas, entre as quais as que activam as diferentes integrinas, interferindo com a sua função; nesse mesmo trabalho, os autores demonstraram uma redução da expressão da CD11b da superfície dos monócitos e da adesão destas células ao endotélio²⁴. Terminam afirmando que estes efeitos não estão relacionados com a redução do colesterol, mas sim com o metabolismo dos isoprenóides e os processos dependentes da isoprenilação²⁴.

Também a nível das moléculas de adesão, que se encontram aumentadas nos indivíduos hipercolesterolémicos²⁵, as estatinas têm demonstrado interferir favoravelmente; assim, num estudo realizado em indivíduos com doença oclusiva arterial periférica, a fluvastatina reduziu significativamente os valores da selectina-P solúvel¹³. Também em doentes com síndromas coronárias agudas medicados previamente com estatinas, versus doentes sofrendo igualmente da mesma patologia mas não medicados com qualquer estatina, se verificou que os primeiros apresentavam menores níveis de selectina-P²⁶.

Continuando a nossa revisão sobre as acções imunomodificadoras das estatinas, será oportuno referenciar um trabalho em que se demonstrou que estes fármacos exercem igualmente um conjunto de acções a nível das células tubulares renais¹⁰. Os factores de crescimento actuam através da acção a nível de várias proteínas e genes que necessitam, para a sua activação, de ser isopreniladas; estas proteínas isopreniladas são assim necessárias para a progressão do ciclo celular e o controlo do crescimento¹⁰. No presente trabalho, a lovastatina ao interferir com a isoprenilação de diversas proteínas, entre as quais a p 21 ras, interferiu com a acção dos factores de crescimento dela dependentes¹⁰. Os autores concluem afirmando que a inibição da síntese dos isoprenóides a nível das células tubulares renais, pela lovastatina, resultou na redução da proliferação destas células¹⁰. Além deste efeito antiproliferativo nas células tubulares renais e igualmente através da inibição da isoprenilação, desta vez da proteína Rho, a lovastatina provocou a fragmentação dos filamentos de actina celulares e induziu a apoptose ou morte celular programada¹⁰. Num outro trabalho, utilizando culturas de células mesan-

giais humanas, a simvastatina reduziu a síntese do DNA, induzida pelo *platelet-derived growth factor* (PDGF), a activação do NF-KB e a expressão do MCP-1, novamente por inibição da síntese dos isoprenóides¹⁰. A simvastatina e a lovastatina, em trabalhos com células musculares lisas humanas, mostraram ter capacidade antiproliferativa reduzindo, a síntese do DNA induzida pelo PDGF e acção pró-apoptótica, efeitos igualmente dependentes dos níveis de mevalonato e isoprenóides intracelulares^{27,28}.

Ainda a nível da patologia renal, um outro estudo avaliou a acção da lovastatina a nível da infiltração dos glomérulos pelos macrófagos que, como é sabido, constitui um dos mecanismos do desenvolvimento da glomeruloclerose focal²⁹. Um factor importante na migração dos monócitos para o mesângio glomerular é a MCP-1; admite-se que as moléculas isoprenóides sejam necessárias para a expressão do RNA m do MCP-1 e que, ao inibir a produção destas moléculas, a lovastatina reduza a expressão deste factor quimiotáctico, com a consequente redução da infiltração glomerular pelos monócitos/macrófagos²⁹. Neste trabalho efectuado em ratos, os indivíduos pré-tratados com lovastatina demonstraram menor infiltração do glomérulo pelos macrófagos, após a lesão renal provocada pelo aminoglicosídeo puromicina, tendo sido este efeito, mais uma vez, independente da redução do colesterol plasmático²⁹. Outros estudos, utilizando igualmente o modelo do rato diabético, chegaram a conclusões semelhantes, nomeadamente um trabalho em que a lovastatina suprimiu a expressão glomerular do *tumor growth factor beta-1* (TGF beta 1), com a consequente redução da acumulação de proteínas na matriz extracelular e redução da glomerulopatia diabética³⁰. Num estudo igualmente efectuado em ratos mas, desta vez, com a simvastatina, verificou-se uma redução da infiltração glomerular pelos macrófagos, novamente de uma forma independente dos valores da colesterolémia. Também em ratos, utilizando a lovastatina e a pravastatina nas doses de 10 mg / Kg, foi possível reduzir em 50 % a produção do MCP-1 e o recrutamento de leucócitos induzido pelo LPS³¹. Num trabalho em que se utilizaram células mesangiais humanas estimuladas pelas LDL nativas e OxLDL, estas últimas altamente pró-inflamatórias, a lovastatina inibiu a expressão do mRNA IL-6 e a resposta inflamatória nessas células mesangiais; os autores admitem que o efeito anti-inflamatório observado possa atenuar a lesão glomerular³².

Uma acção interessante das estatinas é a sua capacidade antitumoral (particularmente estudada com a lovastatina). Já em 1991 Jakobisiak afirmava que a lovastatina era capaz de parar as células tumorais e as células normais na fase G do ciclo celular; por seu lado Sumi, em 1992, e Fellezko, em 1995, afirmavam que a lovastatina demonstrou actividade antitumoral no ratinho³³; Thibault, em 1996, descreveu os resultados de fase I da utilização da lovastatina em pacientes cancerosos³³. Alguns estudos mostraram que

a combinação da lovastatina com o TNF ou com o cisplatínum, potenciou a acção antitumoral, num modelo de melanoma do rato³³. Para alguns autores a explicação para esta actividade das estatinas estará dependente da capacidade destes fármacos de interferir com a função das proteínas ras; com efeito, e como já foi dito atrás, a ligação das proteínas ras aos isoprenóides é indispensável para a sua actividade. Por outro lado, as proteínas ras, nomeadamente as oncogénicas, podem estimular a angiogénese através do aumento da expressão do *vascular endothelial growth factor* (VEGF), factor este indispensável à formação de novos vasos que irão fornecer os nutrientes às células do tumor primitivo e/ou das metástases³³. Assim, admite-se que a actividade antitumoral da lovastatina possa resultar da inibição da produção do VEGF através da ausência de isoprenilação dos oncogenes ras, indispensáveis à acção desse factor de crescimento³³. De notar que no trabalho de Feleszko realizado em ratinhos, em que este autor investigou a actividade antitumoral da lovastatina e avançou com o possível mecanismo de acção, se utilizaram doses de 50 mg/Kg, muito superiores às utilizadas na terapêutica humana³³! Num outro estudo os autores mostraram igualmente uma capacidade citostática das estatinas; segundo os investigadores, esta acção será devida à redução do dolicol e da glicosilação dos receptores do IGF-I (factor de crescimento insulina-like), bloqueando a transição da fase G1 para a fase S e induzindo a apoptose³⁴.

De todas as considerações tecidas acima se conclui que as estatinas inibem não só a síntese do colesterol mas, igualmente, de um grande número de outras moléculas, nomeadamente das isoprenóides (geranyl e farnesil); as moléculas isoprenóides modificam várias proteínas e são indispensáveis à sua activação, como é o caso das proteínas ras^{24,35}. Estas proteínas isopreniladas são necessárias para o aumento da expressão e da actividade de diversas e importantes moléculas dos mecanismos inflamatórios – integrinas, factores de crescimento, NF-KB, TNF alfa, IL-1, IL-6, MHC II e outras^{24,35,36}. Admite-se que esta acção anti-inflamatória das estatinas explique parte do efeito benéfico a nível da lesão vascular, assim como abre perspectivas de futura utilização nas terapêuticas imunomoduladoras das doenças inflamatórias e tumorais.

FIBRATOS – O BECAIT é o primeiro estudo angiográfico controlado demonstrando que o tratamento com um fibrato, o bezafibrato, tem efeitos benéficos na progressão da aterosclerose coronária focal³⁷; para além dos efeitos lipídicos, que não justificarão todo o benefício observado, os autores apontam outras acções deste fibrato, dependentes igualmente da sua capacidade de activação dos *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR)³⁷. Também o estudo LOCAT, desta vez utilizando o genfibrozil, mostrou ser este fármaco capaz de retardar a progressão

da aterosclerose coronária nos homens com baixos valores de colesterol HDL; mais uma vez, as alterações a nível dos lípidos não terão explicado na totalidade o benefício obtido³⁸!

Diversos trabalhos encontraram níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias em indivíduos com dislipidemias, como é o caso do TNF-alfa e do INF-gama, e demonstraram a capacidade dos fibratos em reduzir os valores dessas citocinas³⁹.

Num estudo publicado em 1994, os autores avaliaram a possível capacidade do fenofibrato de inibir o crescimento das células musculares lisas (fenómeno subjacente às lesões de reestenose); o fenofibrato inibiu o crescimento destas células induzido pelo factor de crescimento derivado das plaquetas, inibindo igualmente o factor de crescimento dos fibroblastos; este efeito foi independente da acção a nível do colesterol.

Para tentar perceber as possíveis acções imunomoduladoras dos fibratos, é necessário debruçarmo-nos, ainda que de uma forma breve, sobre os *peroxisome proliferator-activated receptor*, abreviadamente PPAR. Estes são factores de transcrição pertencentes à superfamília dos genes de receptores nucleares, encontrando-se distribuídos por diferentes tecidos e com variadas acções metabólicas^{40,41,42}. Os PPAR alfa expressam-se essencialmente nos tecidos com um alto ritmo catabólico, como sejam o fígado, o coração, o rim e o músculo; os PPAR gama encontram-se no tecido adiposo controlando a diferenciação dos adipócitos e o armazenamento dos lípidos. Os PPAR funcionam como factores de transcrição dependentes de *ligantes*, que se unem a receptores específicos chamados *peroxisome proliferator-response element* (PPRE), regulando a expressão de genes alvo; de entre estes alvos encontram-se os genes pró-inflamatórios⁴⁰. A maior parte dos PPRE identificados residem nos genes envolvidos no metabolismo lipídico intra e extracelular⁴⁰. Os anti-diabéticos orais, tiazolidinedionas são os ligantes para os PPAR gama, enquanto que os fibratos e os eicosanóides, tal como o leucotrieno B4 e o ácido hidroxieicosatetranóico, são os ligantes, sintéticos e naturais respectivamente, para os PPAR alfa⁴⁰. O facto de os PPAR alfa serem activados pelos metabolitos do ácido araquidónico faz supor um papel destes factores de transcrição, não só a nível do metabolismo lipídico mas igualmente no controlo da inflamação⁴¹. O leucotrieno B4 (LTB4), um ligante do PPAR alfa, é um potente agente quimiotáctico que inicia, coordena, mantém e amplia a resposta inflamatória; a interacção directa entre os PPAR alfa e o LTB4 aumenta o catabolismo deste último e, assim, o PPAR alfa é um modulador da inflamação mediada por este eicosanóide⁴¹. Utilizando ratos (+ / +) e ratos “knockout” (- / -) para os PPAR alfa, demonstrou-se que a falta dos PPAR alfa prolongou a resposta inflamatória⁴¹. Os anti-inflamatórios não esteróides são outros importantes activadores dos PPAR. Perante estes dados não é de

estranhar que os fibratos possam, para além das suas acções a nível do metabolismo lipídico, modular os mecanismos inflamatórios subjacentes à patogénese da aterosclerose. Muitos autores têm estudado as acções imunomoduladoras destes fármacos, encontrando-se na literatura diversos trabalhos que procuram estudar os mecanismos subjacentes^{40,41,42,43}.

Assim, num artigo publicado em 1999, começa-se por se chamar a atenção para a importância da IL-6, citocina encontrada nas lesões de aterosclerose humanas e do coelho; para além de constituir um marcador inflamatório, esta citocina, que é secretada pelas células endoteliais, monócitos/macrófagos e células musculares lisas (CML), controla a quimiotaxia e a activação dos macrófagos e das células T, a proliferação e migração das CML e é ainda um regulador da resposta de fase aguda⁴². Segundo os autores, os fibratos reduzem as concentrações plasmáticas da IL-6 e do TNF alfa nos doentes com lesões de aterosclerose comprovadas angiograficamente e impedem a produção de IL-6 induzida pela IL-1B nas CML⁴². No mesmo trabalho, demonstrou-se que os PPAR alfa têm propriedades anti-inflamatórias a nível vascular, dado que as aortas de ratos sem PPAR alfa mostraram uma resposta inflamatória exagerada à estimulação com LPS, avaliada pela produção de IL-6⁴². Constatou-se igualmente que os PPAR medeiam as acções anti-inflamatórias dos fibratos a nível da parede vascular, inibindo a produção de IL-6 pelas CML⁴²; estes resultados vêm confirmar os achados de outros trabalhos em que, para além da redução da produção da IL-6, os fibratos, através dos PPAR alfa, reprimiram a actividade da sintase do óxido nítrico induzível nos macrófagos e a expressão do VCAM-1 nas células endoteliais⁴³. Num trabalho em que se utilizaram células endoteliais de artérias humanas, comprovou-se a existência dos PPAR alfa nestas células e a redução da expressão do VCAM-1 induzida por citocinas com o fenofibrato (agonista dos PPAR alfa), através da inibição do NF- κ B⁴³. Os fibratos, através dos PPAR alfa, conseguirão reprimir a produção da IL-6, interferindo com a reactivação do NF- κ B⁴³. Outros trabalhos confirmam a expressão dos PPAR alfa nas células musculares lisas humanas e a sua capacidade de inibir não só a produção de IL-6 induzida pela IL-1, mas igualmente a expressão da ciclooxigenase 2 (COX-2)⁴⁴. Num artigo de Bart Staels e colaboradores, os autores afirmam que os fibratos não alteraram os níveis basais da COX-2, mas inibiram a produção desta molécula nas CML, induzida pela IL-1.⁴⁴ A activação da transcrição da COX-2 pelas citocinas pró-inflamatórias ocorre através da activação do NF- κ B, pelo que se admite que a repressão deste factor de transcrição pelos PPAR alfa esteja subjacente a esta inibição⁴⁴.

Da revisão de vários trabalhos conclui-se assim que:

Os activadores dos PPAR alfa, nomeadamente os fibratos, reduzem a resposta inflamatória *in vitro* e *in vivo*⁴⁰.

Os PPAR alfa exercem a sua acção anti-inflamatória, pelo menos em parte, pela inibição da transcrição do NF- κ B^{40,44}.

Juntamente com os seus efeitos hipolipemiantes, as propriedades anti-inflamatórias dos fibratos conferem a estes fármacos acções benéficas na aterosclerose^{40,44}.

PROBUCOL –O probucol é um fármaco anti-aterogénico único, exercendo esta acção mais pelo seu efeito anti-oxidante do que pelo efeito hipolipemiante; o seu exacto mecanismo anti-aterogénico não está ainda perfeitamente esclarecido mas, tal como em relação aos fibratos e às estatinas, são-lhe reconhecidas propriedades imunomoduladoras.

Num interessante artigo publicado no *Kidney International*, avalia-se a acção do probucol a nível das células mesangiais do glomérulo do rato¹¹. Os autores chamam a atenção para o papel da IL-1 nos estádios iniciais da inflamação na glomerulonefrite apresentando, essencialmente, dois tipos de acções: uma delas é a de potenciar a acção do PDGF promovendo a proliferação das células mesangiais; a outra importante acção desta citocina é a de provocar a infiltração leucocitária, mediada pelo aumento da expressão da ICAM-1¹¹. A proliferação mesangial e a infiltração do mesângio pelas células inflamatórias constituem um mecanismo precoce e comum a várias lesões glomerulares¹¹. Noutro trabalho dos mesmos autores, publicado em 1998, afirmava-se que o probucol inibia a expressão mRNA ICAM-1 e a expressão da proteína ICAM-1, por supressão da actividade da IL-1, nas células mesangiais de rato em cultura⁴⁵. No presente estudo, Sugiura, incubou células mesangiais com LPS, na presença e na ausência do probucol, durante 24 horas; o LPS aumentou em 5 vezes a expressão de ICAM-1 e o probucol reduziu significativamente este aumento¹¹! Os autores admitem a capacidade do probucol poder suprimir o processo inflamatório da glomerulonefrite, ao inibir a libertação de IL-1¹¹; adiantam igualmente que através da inibição da libertação desta citocina pelos macrófagos, o probucol poderá também interferir favoravelmente nas lesões de aterosclerose¹¹! Num outro estudo realizado em células endoteliais da veia umbilical humana em cultura, o pré-tratamento destas células com 50 microM de probucol mostrou que este fármaco reduziu a expressão do mRNA e da proteína VCAM-1, após estimulação com TNF alfa; em consequência da redução desta proteína, verificou-se uma redução da adesão dos leucócitos às células endoteliais⁴⁶. Num outro trabalho em que se utilizaram células endoteliais do porco, verificou-se que a adesão dos monócitos e a expressão da selectina-P, após estimulação pelas OxLDL, foram inibidas pelo tratamento com o probucol⁴⁷. Outros autores, em trabalhos realizados na aorta de coelhos deficientes em receptores LDL, para além de reafirmarem uma correlação significativa entre a expressão do VCAM-1 e a infiltração de macrófagos na íntima, demonstraram uma redução significativa dos

valores do VCAM-1 e do *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF) arteriais (íntima e média), com a consequente redução da infiltração pelos macrófagos, após tratamento com o probucol^{48†}.

Para além do efeito imunomodulador directo deste fármaco a sua capacidade de inibir a oxidação das LDL, lipoproteínas que, quando oxidadas, induzem a libertação da IL-1 pelos macrófagos, constitui um outro mecanismo de inibição da libertação desta citoquina pró-inflamatória.

Conclusões

Das considerações efectuadas pode-se concluir pela existência de uma capacidade das estatinas, dos fibratos e do probucol de interferir com os mecanismos inflamatórios e imunológicos, aparentemente de uma forma favorável ao equilíbrio homeostático. Curiosamente, os hipolipemiantes citados conseguirão estes efeitos imunomoduladores de uma forma independente das suas acções a nível dos lípidos. Com efeito, é conhecida a forte relação entre o metabolismo lipídico e os mecanismos inflamatórios, nomeadamente com a síntese dos eicosanóides (prostanóides e leucotrienos) a partir dos ácidos gordos, principalmente do ácido araquidónico; sabendo-se que este ácido gordo existe essencialmente nos fosfolípidos e no colesterol esterificado e que é fornecido às células, nomeadamente às células inflamatórias, através das lipoproteínas plasmáticas, não será difícil de admitir que, ao interferir com o metabolismo das diversas lipoproteínas, os hipolipemiantes consigam igualmente interferir com os mecanismos inflamatórios. Assim, para além do efeito dependente da acção hipolipemiante, estes fármacos manifestam actividades anti-inflamatórias e imunomoduladoras intrínsecas que, embora ainda não completamente esclarecidas, se admite estarem dependentes da inibição da síntese dos isoprenóides (estatinas) e da acção sobre os receptores celulares PPAR alfa (fibratos). Admite-se igualmente que estas acções imunomoduladoras das estatinas e dos fibratos sejam fenómenos de classe. Esta conclusão baseia-se nos mecanismos que se julga estarem subjacentes a estas acções, mecanismos estes comuns a todos os fármacos de cada grupo de hipolipemiantes.

Bibliografia

1. Wick G, Millonig G, Xu Q. I-The autoimmune pathogenesis of atherosclerosis-an evolutionary-Darwinian concept. Editors: Yehuda Shoenfeld, Dror Harats and Georg Wick. In: Atherosclerosis and Autoimmunity. Amsterdam: Elsevier Science. 2001: 5-16
2. Goran K Hanson. Cell-mediated immunity in atherosclerosis. Current Opinion in Lipidology 1997; 8: 301-311.
3. George J, Harats D, Gilburd B, Shoenfeld Y. Emerging cross-regulatory roles of immunity and autoimmunity in atherosclerosis. Immunologic Resarch 1996;15(4): 315-322.
4. Frostegard J, Ulfgren Ak, Nyberg P, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. Atherosclerosis 1999; 145: 33-43.
5. George J, Harats D, Gilburd B, Levy Y, Langevitz P, Shoenfeld Y. Atherosclerosis-related markers in systemic lupus erythematosus

patients: the role of humoral immunity in enhanced atherogenesis. Lupus 1999;8 (3): 220-226.

6. Vaarala O. Antiphospholipid antibodies and atherosclerosis. Lupus 1996; 5(5): 442-447.
7. Ellis RW. Infection and coronary heart disease. J Med Microbiol 1997; 46: 535-539.
8. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? Lancet 1997 ;350:430-436.
9. Kallen J, Welzenbach K, Ramage P, et al. Structural basis for LFA-1inhibition upon lovastatin binding to the CD 11a 1-domain. Journal of Molecular Biology 1999;292 (1): 1-9.
10. Vrtovsnik F, Essig M, Iimura O, Friedlander G. Effect of lipid-lowering strategies on tubular cell biology. Kidney International-supplement 1999; 71: S92-96.
11. Sugiura T, Wada A, Moryama T, et al. Probucol suppresses ICAM-1 expression in rat mesangial cells: possible role of IL-1. Kidney International-supplement 1999; 71: S167-170.
12. Rosenson RS, Tangney CC, Casey LC. Inhibition of pro-inflammatory cytokine by pravastatin.Lancet 1999;353 (9157): 983-984.
13. Kirk G, McLaren M, Muir AH, Stonebridge PA, Belch JJ. Decrease in P-selentin levels in patients with hypercholesterolaemia and peripheral arterial occlusive disease after lipid-lowering treatment. Vascular Medicine 1999;4 (1):23-26.
14. Ikeda U, Shimada K. Statins and monocytes. Lancet 1999; 353 (9169): 2070.
15. Ikeda U, Shimada K. Statins and C-reactive protein. Lancet 1999;353(9160):1274-1275.
16. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. N England J Med 1995; 333: 621-627.
17. Katznelson S, Wang XM, Chia D, et al. The inhibitory effects of pravastatin on natural killer cell activity in vivo and on cytotoxic T lymphocyte activity in vitro. Journal of Heart and Lung Transplantation. 1998; 17 (4) :335-340.
18. Sparrow P, Burton A, Hernandez M et al. Simvastatin has anti-inflammatory and antiatherosclerotic activities independent of plasma cholesterol lowering. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2001; 21: 115-121.
19. Maggard MA, KeB, Wang T, Kaldas F, et al. Effects of pravastatin on chronic rejection of cardiac allografts. Transplantation 1998; 65: 149-155.
20. Kwak B, Mulhaupt F, Veillard N et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin inhibits INF-gamma induced MHC class II expression in human vascular endothelial cells. Schweiz Med Wochenschr 2001 ; 131: 41-46.
21. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, et al. Statins as a newly recognized of immunomodulator. Nat Med 2000; 6: 1399-1402.
22. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA et al. Long term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. Circulation 1999;100:230-235.
23. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Viloi F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. Journal of American College of Cardiology 2000; 36: 427-431.
24. Weber C, Erl W, Weber KS et al. HMG-CoA reductase inhibitors decrease CD 11b expression and CD 11b-dependent adhesion of monocytes to endothelium and reduce increased adhesiveness of monocytes isolated from patients with hypercholesterolemia.Journal of the American College of Cardiology 1997;30(5):1212-1217.
25. Sardo MA, Castaldo M, Cinquegrani M et al. Effects of simvastatin treatment on sICAM-1 and sE-selectin levels in hyper-cholesterolemic subjects. Atherosclerosis. 2001; 155: 143-147.
26. Murphy RT, Foley JB, Mulvihill N et al. Impact of preexisting statin use on adhesion molecule expression in patients presenting with acute coronary syndromes. American journal of cardiology 2001; 87: 446-448.

27. Negre Aminou P, van Erck M, van Leeuwen RE et al. Differential effect of simvastatin on various signal transduction intermediates in cultured human smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol* 2001; 61: 991-998.
28. Knapp AC, Huang J, Starling G, Kiener PA. Inhibitors of HMG-CoA reductase sensitize human smooth muscle cells to Fas-ligand and cytokine-induced cell death. *Atherosclerosis* 2000; 152: 217-227.
29. Park YS, Guijarro C, Kim Y et al. Lovastatin reduces glomerular macrophage influx and expression of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA in nephrotic rats. *American Journal of Kidney Diseases* 1998; 31(1):190-194.
30. Kim SI, Han DC, Lee HB. Lovastatin inhibits transforming growth factor-beta 1 expression in diabetic rat glomeruli and cultured rat mesangial cells. *Journal of the American Society of Nephrology* 2000;11: 80-87.
31. Romano M, Diomede L, Sironi M et al. Inhibition of monocyte chemoattractant protein by statins. *Laboratory Investigation* 2000; 80: 1095-1100.
32. Massy ZA, Kim Y, Guijarro C et al. Low-density lipoprotein-induced expression of interleukin-6, a marker of human mesangial cell inflammation: effects of oxidation and modulation by lovastatin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2000; 267: 536-540.
33. Felezko W, Balkowiec EZ, Sieberth et al. Lovastatin and tumor necrosis factor-alpha exhibit potentiated antitumor effects against Ha-ras-transformed murine tumor via inhibition of tumor-induced angiogenesis. *International Journal of Cancer* 1999; 81(4):560-567.
34. McCarty. Suppression of dolichol synthesis with isoprenoids and statins may potentiate the cancer-retardant efficacy of IGF-I down-regulation. *Med Hypotheses* 2001; 56: 12-16.
35. Pahan K, Sheikh FG, Namboodiri AM et al. Lovastatin and phenylacetate inhibit the induction of nitric oxide synthase and cytokines in rat primary astrocytes, microglia, and macrophages. *Journal of Clinical Investigation* 1997;100(11):2671-2679.
36. Sadeghi MM, Collinge M, Pardi R, Bender JR. Simvastatin modulates cytokine-mediated endothelial cell adhesion molecule induction: involvement of an inhibitory G protein. *Journal Immunology* 2000 ; 165: 2712-2718.
37. Ruotolo G, Ericsson C, Tettamanti C. et al. Treatment effects on serum lipoproteins lipids, apolipoproteins and low density lipoprotein particle size and relationships of lipoprotein variables to progression of coronary artery disease in the bezafibrate coronary atherosclerosis intervention trial (BECAIT). *Journal of the American College of Cardiology* 1998; 32: 1648-1656.
38. Frick M, Syvanne M, Nieminen M et al. Prevention of the angiographic progression of coronary and vein graft atherosclerosis by gemfibrozil after coronary surgery in men with low levels of HDL cholesterol. *Circulation* 1997 ; 96: 2137-2143.
39. Madej A, Okopien B, Kowalski J et al. Effects of fenofibrat on plasma cytokine concentrations in patients with atherosclerosis and hyperlipoproteinemia II b. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1998;36(6): 345-349.
40. Chinetti G, Griglio S, Antonucci M et al. Activation of Proliferator-activated Receptors alpha and Beta Induces Apoptosis of Human Monocyte-derived Macrophages. *The Journal of Biological Chemistry* 1998 ; 273:25573-25580.
41. Devchand P, Keller H, Peters J, et al. The PPAR alpha-leukotriene B4 pathway to inflammation control. *Nature* 1996 ;384: 39-43.
42. Delerive P, Bosscher K, Besnard S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-KB and AP-1. *The Journal of Biological Chemistry* 1999 ; 274: 32048-32054.
43. Marx N, Sukhova G, Collins T et al. PPAR alpha activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation* 1999; 99: 3125-3131.
44. Staels B, Koenig W, Habib A. et al. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR alpha but not by PPAR gamma activators. *Nature* 1998 ; 393: 790-793.
45. Sugiura T, Wada E, Yamauchi A, Horio M, Inai E, Hori M. Probucol inhibits intercellular adhesion molecule-1 expression on cultured rat mesangial cells. *Nephrology*. 1998; 4: 75-80.
46. Zapolska-Downar D, Zapolski-Downar A, Markiewski M et al. Selective inhibition by probucol of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2001; 155: 123-130.
47. Li LX, Chen JX, Liao DF, Yu L. Probucol inhibits oxidized-low density lipoprotein-induced adhesion of monocytes to endothelial cells by reducing P-selectin synthesis in vitro. *Endothelium* 1998; 6: 1-8.
48. Fruebis J, Gonzalez V, Silvestre M. et al. Effect of probucol treatment on gene expression of VCAM-1, MCP-1, and M-CSF in the aortic wall of LDL receptor-deficient rabbits during early atherogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 1997;17(7):1289-1302.