

Artigo de
Revisão

Inflamação e Aterosclerose: Novos Biomarcadores e Perspectivas Terapêuticas

1

Inflammation and Atherosclerosis: New Biomarkers and Outlooks for Treatment

Nadia Alice Vieira da Motta¹, Milla Machado Fumian¹, Juliana Pereira de Castro¹, Fernanda Carla Ferreira de Brito²

Resumo

Atualmente a aterosclerose é considerada uma doença inflamatória crônica, provavelmente iniciada por disfunção endotelial associada a fatores inerentes à ativação do sistema imunológico. A disfunção endotelial pode ser causada por diversos fatores, como colesterol alto, presença de radicais livres, associada a fatores externos, hipertensão, diabetes mellitus, alterações genéticas, dentre outros. No local onde o endotélio se torna disfuncional ocorre uma resposta inflamatória, que estimula a migração e a proliferação de células musculares lisas, que se agregam à área de inflamação, formando uma lesão mais complexa. Além disso, ocorre o recrutamento de leucócitos e adesão de plaquetas ao endotélio na região da placa de ateroma. Apesar da indubitável utilidade do perfil lipídico na avaliação do risco aterosclerótico, esse dado fornece um panorama incompleto do paciente, uma vez que vários eventos cardiovasculares ocorrem em indivíduos com concentrações plasmáticas de colesterol e LDL consideradas adequadas. Considerando o papel de destaque dado ao processo inflamatório no desenvolvimento da aterosclerose, se faz necessária a observação de novos biomarcadores para uma melhor previsão de risco cardiovascular. Este trabalho resume aspectos importantes relacionados às metaloproteinases (MMP), proteína C-reativa (PCR), moléculas de adesão, TNF- α , interleucinas (IL) e adiponectina. O conhecimento destes possíveis marcadores constitui-se de vital

Abstract

Atherosclerosis is currently considered as a chronic inflammatory disease, probably caused by an endothelial dysfunction associated with factors inherent to the activation of the immune system. Endothelial dysfunction may be caused by several factors such as high cholesterol, free radicals, associated with external factors, hypertension, diabetes mellitus, genetic disorders and others. An inflammatory response occurs at the location where the endothelium becomes dysfunctional, stimulating the migration and proliferation of smooth muscle cells, clumping in the inflammation area and forming a more complex lesion, together with the recruitment of leukocytes and platelet adhesion to the endothelium in the atheromatous plaque region. Despite the undoubted utility of the lipid profile in atherosclerotic risk assessment, these data provide an incomplete overview of the patient, as many cardiovascular events occur in patients with cholesterol and LDL plasma concentrations rated as adequate. Considering the prominent role assigned to the inflammatory process for the development of atherosclerosis, it is necessary to observe new biomarkers in order to predict cardiovascular risk more effectively. This paper summarizes important aspects related to matrix metalloproteinases (MMPs), C-reactive protein (CRP), adhesion molecules, TNF- α , interleukins (ILs) and adiponectin. Knowledge of these potential markers is of vital importance for

¹Programa de Pós-graduação (Doutorado) em Ciências Cardiovasculares - Laboratório de Farmacologia Experimental - Departamento de Fisiologia e Farmacologia - Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói, RJ - Brasil

²Laboratório de Farmacologia Experimental - Departamento de Fisiologia e Farmacologia - Universidade Federal Fluminense (UFF) - Niterói, RJ - Brasil

Correspondência: Fernanda Carla Ferreira de Brito

E-mail: fernandabrito@vm.uff.br

Rua Hernani Pires de Mello, 101 sala 204-A - São Domingos - 24420-210 - Niterói, RJ - Brasil

Recebido em: 30/04/2013 | Aceito em: 09/10/2013

importância para o direcionamento eficiente de novas abordagens terapêuticas, representando um novo horizonte no tratamento da aterosclerose.

Palavras-chave: Aterosclerose; Biomarcadores farmacológicos; Inflamação

efficiently targeting new therapeutic approaches, opening up a new horizon for atherosclerosis treatment.

Keywords: Atherosclerosis; Biomarkers, pharmacological; Inflammation

Introdução

No Brasil, as doenças cardiovasculares correspondem à principal causa de mortalidade (32%), e as doenças isquêmicas do coração representam a segunda maior taxa, correspondendo a 48,5 por 100.000 habitantes/ano¹. Atualmente, sabe-se que a aterosclerose é uma doença inflamatória crônica multifatorial, provavelmente iniciada por uma disfunção endotelial e também associada à ativação do sistema imunológico². A disfunção endotelial pode ser causada por diversos fatores, como colesterol alto, presença de radicais livres, causados pelo fumo, hipertensão, diabetes mellitus, alterações genéticas, além de combinações desses e outros fatores²⁻⁶. No local onde o endotélio se torna disfuncional ocorre uma resposta inflamatória, que estimula a migração e a proliferação de células musculares lisas, que se agregam à área de inflamação, formando uma lesão mais complexa⁷. Além disso, ocorre o recrutamento de leucócitos e a adesão de plaquetas ao endotélio na região da placa de ateroma⁸. Em todos os estágios da doença, a resposta inflamatória é mediada por macrófagos e subtipos específicos de linfócitos, sendo que esses dois tipos celulares se multiplicam na lesão, e quando ativados levam à liberação de enzimas hidrolíticas, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, que geram danos posteriores^{9,10}, podendo inclusive causar necrose no local¹¹. Com a progressão da doença ocorre o crescimento da lesão, com formação de tecido fibroso, que causa aumento e reestruturação da placa de ateroma, até que ela se torna coberta por uma cápsula fibrosa. Em determinado momento, a artéria pode não conseguir compensar os danos sofridos, e assim ocorrer o rompimento da cápsula fibrosa¹². Este rompimento irá acarretar diversas doenças como, por exemplo, a trombose ou infarto do miocárdio.

Os hábitos alimentares inadequados e o sedentarismo, que caracterizam a sociedade atual, englobam constantemente o colesterol alto e a inflamação vascular, que são fatores que desencadeiam a aterosclerose. Portanto, estratégias que reduzam o processo inflamatório podem ser de grande relevância para o tratamento dessa doença, sendo as células do sistema imunológico e os mediadores liberados por sua ativação, como citocinas, quimiocinas, enzimas ou

microRNAs, novas perspectivas terapêuticas estratégicas para o tratamento da aterosclerose.

Esta revisão descreve os principais aspectos associados ao desenvolvimento da aterosclerose, destacando os principais biomarcadores clássicos e não clássicos desse processo, com o objetivo de apontar novas perspectivas para o seu tratamento.

1. Desenvolvimento da Aterosclerose

Várias teorias foram propostas para explicar o início do processo inflamatório na aterosclerose; a mais aceita é a união da hipótese de resposta à lesão endotelial¹² somada à hipótese oxidativa¹³. O endotélio lesado pelo acúmulo de lipoproteínas de baixa densidade oxidada (LDLox) torna-se ativado, expressando moléculas de adesão e promove a liberação de mediadores da resposta inflamatória e imunológica¹⁴. O evento crítico inicial na gênese da aterosclerose é a lesão endotelial, caracterizada pela diminuição da produção de óxido nítrico (NO) concomitante à liberação de vários mediadores inflamatórios e moléculas quimioatraentes em resposta à injúria tecidual, desencadeada pelo acúmulo de LDL na parede das artérias. Desse modo, a injúria causada no endotélio aumenta a adesão de leucócitos e plaquetas no local da lesão, bem como a sua permeabilidade, favorecendo a infiltração dessas células no espaço subendotelial. Essa injúria também faz com que o endotélio exerça propriedades pró-coagulantes ao invés de anticoagulantes¹².

As LDL possuem características aterogênicas e quando estão em altas concentrações no plasma, por terem menor tamanho, penetram com maior facilidade na parede dos vasos, aumentando a geração de ânions superóxido (O_2^-) pelo endotélio, que promove modificações na estrutura da LDL originando a lipoproteína de baixa densidade modificada (LDLm)¹⁵. A LDLm se infiltra na camada íntima, podendo sofrer oxidação ou outras modificações causadas por enzimas presentes no subendotélio (mieloperoxidases, óxido nítrico sintase induzida), originando a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox). Essas reações de oxidação promovem a liberação de fosfolípidos causando a ativação das células

endoteliais que, por sua vez, passam a expressar um receptor para a LDLox (LOX-1), culminando na internalização da LDLox pelas células endoteliais¹⁶.

Uma vez no espaço subendotelial, a LDLox induz a ativação das células endoteliais que, por sua vez, produzem citocinas e quimiocinas responsáveis pela expressão de moléculas de adesão (moléculas de adesão intercelular [ICAM-1], moléculas de adesão de célula vascular [VCAM-1], selectina de plaquetas [P-selectina] e selectina de células endoteliais [E-selectina]) e pela quimiotaxia, adesão e migração dos leucócitos. Dentre as citocinas produzidas, pode-se destacar: IL-1, IL-6 e TNF- α ¹⁷.

Essas citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão atraem os leucócitos (monócitos, linfócitos B e T) para a superfície endotelial onde, por estímulo das interleucinas (IL-1 e IL-6) dentre outras substâncias, transmigram para o espaço subendotelial. No espaço subendotelial, os monócitos entram em contato com o fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) e diferenciam-se em macrófagos¹⁸. Os macrófagos reconhecem a molécula de LDLox e passam a expressar receptores *scavenger* (SR) e receptores do tipo *Toll* (TLR). Esses receptores estão envolvidos na iniciação da resposta imune inata. Os TLR regulam as funções dos macrófagos, promovendo sua ativação pelo reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos. Os SR se ligam à LDLox e promovem sua endocitose, culminando na formação de células espumosas¹⁹.

Com a formação das células espumosas é desencadeada uma série de eventos com liberação de diversos mediadores pró-inflamatórios como IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , aumentando a resposta inflamatória e atraindo mais leucócitos para o local da lesão. Além disso, os TLR transmitem sinais através das membranas que promovem a ativação de fator nuclear kappaB (NF- κ B) e das vias de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK), aumentando a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas no recrutamento de leucócitos, produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), fagocitose, apoptose e citocinas que aumentam o processo inflamatório local, perpetuando a resposta inflamatória. Todos esses eventos associados promovem a formação da placa aterosclerótica²⁰.

Tendo em vista a relevância do processo inflamatório no desenvolvimento da aterosclerose, estratégias que reduzam a inflamação são importantes para o tratamento dessa doença, sendo as células do sistema imunológico e as citocinas possíveis alvos para o tratamento.

2. Mediadores inflamatórios envolvidos na aterosclerose: principais biomarcadores

2.1 Metaloproteinases de matriz

As metaloproteinases de matriz (MMP) são endoproteases zinco-dependentes, com atividade colagenase e/ou gelatinase, exercendo importante papel na clivagem de componentes de matriz extracelular. Essas enzimas estão envolvidas na patogênese de um amplo espectro de desordens cardiovasculares²¹. Desde a sua primeira descrição, em 1962, já são reconhecidos 28 membros dessa superfamília de enzimas. Elas são subagrupadas com base na especificidade do substrato e na sua estrutura²². As MMP são capazes de degradar componentes da matriz extracelular, tais como colágeno, proteoglicanas, elastina, fibronectina e outras glicoproteínas^{23,24}.

A placa ateromatosa vulnerável à ruptura demonstra intenso processo inflamatório. Nesse meio inflamatório, os macrófagos secretam MMP que progressivamente degradam os componentes colagenosos da cápsula fibrosa, comprometendo a estabilidade da placa e a integridade da membrana basal do endotélio. Com isso há maior predisposição à ruptura da placa ateromatosa, progredindo para uma oclusão parcial ou total da artéria e desencadeando eventos cardiovasculares importantes, tais como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico²⁴.

Na última década, as MMP têm sido estudadas na patogênese da aterosclerose e de eventos cardiovasculares, devido a seu importante papel na diferenciação, proliferação e migração celular, bem como no remodelamento vascular. As MMP-2 e MMP-9 são as principais gelatinases envolvidas na formação e desestabilização da placa ateromatosa²².

Análises de placas de ateroma humanas demonstram que a MMP-9 é cataliticamente ativa e pode então contribuir para a desestabilização da matriz extracelular que leva à ruptura da placa durante a aterotrombose^{25,26}. Outras evidências sugerem que a superexpressão local de MMP-9 promova a formação de trombos intravasculares através da expressão aumentada de fator tecidual, com consequente ativação da cascata de coagulação²⁷. Esses dados comprovam um importante papel para a MMP-9 em diferentes estágios da aterosclerose.

2.2 Proteína C-reativa

A PCR é uma proteína de fase aguda e um marcador inflamatório. É sintetizada principalmente nos hepatócitos e nos adipócitos e em células da

musculatura lisa vascular em resposta ao aumento de IL-6 e TNF- α . Possui uma meia-vida plasmática em torno de 19 horas²⁸. A PCR exerce importante efeito pró-inflamatório e seus níveis elevados estão associados à disfunção vascular e à progressão da aterosclerose. Diversos estudos têm fornecido evidências consistentes sobre o seu relevante papel como preditor de risco para eventos cardiovasculares^{29,30}.

A PCR é um marcador não específico de inflamação, assim, seus níveis podem estar elevados em resposta a diversos tipos de injúrias biológicas, infecções, condições inflamatórias, doenças autoimunes e até mesmo em neoplasias³¹. PCR exerce um importante papel no desenvolvimento e progressão da aterosclerose através do aumento da expressão de moléculas de adesão, proteína quimiotática de monócitos do tipo 1 (MCP-1), endotelina e inibidor do ativador de plasminogênio (PAI)³². A PCR também reduz a biodisponibilidade de óxido nítrico³³, além de induzir a diferenciação dos monócitos em macrófagos³⁴.

2.3 Moléculas de adesão

O recrutamento de monócitos no espaço subendotelial é o primeiro evento importante no desenvolvimento da aterosclerose³⁵. A ativação da célula endotelial por mediadores inflamatórios induz a expressão superficial de uma série de moléculas fundamentais para a adesão, rolamento e migração dos leucócitos da corrente sanguínea para o local da lesão³⁶.

O processo inflamatório local é atribuído a diversos mediadores inflamatórios produzidos pelos leucócitos, incluindo molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), molécula de adesão de célula vascular-1 (VCAM-1), E-selectina, MCP-1 e fator estimulador de colônia de monócito (M-CSF)³⁷. No contexto de recrutamento dos leucócitos, VCAM-1, ICAM-1 e a E-selectina parecem ter um papel importante na aderência dos leucócitos presentes no ateroma nascente. Com a adesão dos leucócitos à camada endotelial ativada, ocorre transmigração dos mesmos, por diapedese, entre as células intactas, iniciando-se o processo ateromatoso²².

Huo and Ley³⁸ identificaram a expressão dessas moléculas na superfície do endotélio onde ocorrem as placas fibrosas contendo lipídeos. Essa expressão aumenta vastamente após a injúria vascular. Dados desse estudo sugerem que as moléculas de adesão são fundamentais para o recrutamento dos monócitos e, portanto, para o início e progressão da doença aterosclerótica³⁸.

2.4 TNF- α

O TNF- α é uma citocina pleiotrópica produzida por diferentes tipos de células. Ele é secretado por

macrófagos, linfócitos e monócitos, sendo seu principal efeito fisiológico promover a resposta imune e inflamatória³⁹. É considerado o principal modulador da produção de citocinas inflamatórias. Além disso, TNF- α estimula a transdução de sinal de mediadores lipídicos tais como prostanoídes e fator ativador de plaquetas⁴⁰.

O TNF- α interage com receptores de células endoteliais vasculares, o que leva a aumento na permeabilidade vascular. Após sua expressão, liga-se a receptores específicos transmembranas ativando diferentes cascatas de sinalização e, conseqüentemente, múltiplas respostas biológicas⁴¹. O TNF- α está associado à placa ateromatosa, com deposição e ativação de elementos celulares na parede dos vasos e, possivelmente, à progressão da aterosclerose^{42,43}.

2.5 Adiponectina

A adiponectina é um hormônio derivado do tecido adiposo de relevante interesse científico, principalmente no estudo da obesidade, aterosclerose, diabetes e síndrome metabólica⁴⁴. A visão clássica do adipócito como reservatório energético já não é mais válida. Em 1987 foi identificada uma ação dos adipócitos no metabolismo dos esteroides sexuais⁴⁵ e a posterior descoberta da leptina veio estabelecer definitivamente o tecido adiposo como órgão endócrino. O tecido adiposo é capaz de expressar diversas citocinas como TNF- α , IL-6 e MCP-1⁴⁶.

A adiponectina possui uma estreita correlação com a sensibilidade à insulina, disfunção endotelial e morbidades cardiovasculares⁴⁷. Promove um aumento da sensibilidade à insulina, além de exercer um importante efeito anti-inflamatório no leito vascular⁴⁸. Seus mecanismos de ação incluem a inibição da ativação do fator nuclear kappaB (NF- κ B), a atenuação da expressão das moléculas de adesão induzidas pelo TNF- α , a indução da produção de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e o antagonismo do receptor de IL-1 nos monócitos e macrófagos^{49,50}.

A adiponectina induz a produção de óxido nítrico (NO) em células endoteliais através da ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e o subsequente aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), além de prevenir lesões ateroscleróticas em camundongos deficientes de ApoE. Tais efeitos ocorrem através da supressão da expressão de VCAM-1 e de receptores *scavenger* classe A⁵¹. Nesse contexto, a adiponectina parece ocupar um lugar de destaque, por exercer ações protetoras em doenças importantes, tais como a obesidade e a doença aterosclerótica.

2.6 Interleucinas

Alguns papéis desempenhados por citocinas como IL-1 e IL-6 já estão bem estabelecidos na literatura, como a expressão de moléculas de adesão, a quimiotaxia de células inflamatórias, a diferenciação celular, a produção de proteínas de fase aguda e a proliferação de células musculares lisas. Todos esses processos amplificam a resposta inflamatória local e sistêmica, envolvendo os sistemas de coagulação e fibrinolítico⁵². A principal função atribuída a IL-1 na aterogênese é a sua capacidade de aumentar a expressão de moléculas de adesão quando seus níveis não são muito elevados. Porém, em altas concentrações, passa a ser liberada na circulação sanguínea exercendo efeitos endócrinos, estimulando a produção de outros mediadores inflamatórios de fase aguda pelo fígado⁵³.

No que se refere à IL-6, esta citocina tem como principais funções a quimiotaxia e a mitogênese para as células musculares lisas⁵⁴. Ela também possui a capacidade de estimular a produção hepática de PCR, assim como regular a expressão de outras citocinas inflamatórias como IL-1 e TNF- α ⁵⁵. Estudo realizado em humanos demonstrou que pacientes com níveis elevados de IL-6 tinham valor preditivo de risco na ocorrência de eventos cardiovasculares até duas vezes maior que os pacientes com níveis normais⁵⁶. Observou-se que os pacientes com níveis séricos de IL-6 elevados apresentavam maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares como infarto do miocárdio e angina instável. Dessa forma, a IL-6 é considerada bom marcador inflamatório de aterosclerose⁵⁶.

2.7 Ligante do CD40 (CD40L)

As plaquetas desempenham papel central na aterosclerose através da expressão e liberação de mediadores inflamatórios, tais como fator de crescimento derivado de plaquetas e CD40L, além de exercer uma interação direta com leucócitos. Tal interação apresenta relevante sinergismo entre inflamação e trombose na patologia da aterotrombose⁴⁸. O CD40L exerce papel fundamental nos fenômenos iniciais da aterogênese, bem como nos mecanismos tardios que levam à ruptura da placa aterosclerótica, desencadeando as síndromes coronarianas agudas. As principais células envolvidas na aterosclerose como células endoteliais, macrófagos, células do tipo T, células do músculo liso vascular e plaquetas expressam essa citocina pró-inflamatória bem como o seu receptor⁵⁷. A ligação do CD40L desencadeia a expressão de moléculas de adesão e secreção de diversas citocinas e metaloproteínas envolvidas na degradação de matriz extracelular⁵⁸.

Além de todas as suas ações no desenvolvimento da aterosclerose, o CD40L exerce um potencial efeito pró-trombótico, induzindo a expressão de células endoteliais, macrófagos e fator tecidual, culminando na ativação da cascata da coagulação. A inibição do CD40L reduz de forma significativa o desenvolvimento de aterosclerose em modelos experimentais⁵⁹. Nesse contexto, altos níveis séricos do CD40L podem identificar pacientes com risco aumentado de trombose, podendo também ser um útil identificador da instabilidade da placa na SCA em adição aos marcadores de isquemia cardíaca^{60,61}.

3. Novas perspectivas terapêuticas para o tratamento da aterosclerose

Diversos trabalhos descrevem a necessidade de uma abordagem mais complexa para o tratamento da aterosclerose. Isto se comprova pela observação de que o risco residual de um segundo evento cardiovascular adverso principal (MACE) em pacientes cardiopatas, submetidos à terapia atual, é estimado em 70-80%. Isto pode ser atribuído, em parte, ao fato de que as terapias atuais não abordam o componente inflamatório dessa doença^{62,63}. Com efeito, fármacos anti-inflamatórios destinados a reduzir o risco de MACE estão agora em desenvolvimento (Quadro 1). Vale lembrar que as estatinas, que foram desenvolvidas para a redução da síntese de colesterol, também exibem um efeito anti-inflamatório⁶⁴.

3.1 Terapia antioxidante

Uma abordagem emergente para a terapia anti-inflamatória é reduzir a oxidação de lipoproteínas para evitar sua absorção nas células endoteliais da parede dos vasos. Tardif et al.⁶⁵ estudaram o efeito do succinobucol (AGI-1067) - um antioxidante relacionado ao probucol - em ensaio randomizado prospectivo de 6144 pacientes que tiveram infarto do miocárdio ou angina instável no prazo de duas semanas a um ano antes do recrutamento. Nesse estudo observou-se o aparecimento de alguns eventos adversos, como pequenos aumentos no LDL-c, na pressão arterial e elevações esporádicas das enzimas hepáticas^{65,66}.

3.2 Inibidores seletivos da fosfolipase A2

Membros da família das fosfolipases A2 (FLA2) modificam os fosfolipídios e produzem lipídeos pró-inflamatórios aterogênicos. Portanto, a inibição das FLA2 representa um promissor alvo para a prevenção da aterogênese⁶⁷. Atualmente, duas fosfolipases estão sendo investigadas por seu potencial terapêutico: Fosfolipase A2 associada à lipoproteína (FLA2-Lp) e FLA2 secretória (FLA2s)⁶⁸.

Quadro 1

Candidatos a fármacos para o tratamento de doenças cardiovasculares⁶⁴

Substância; indústria	Alvo	Via do alvo	Mecanismo	Estágio do desenvolvimento clínico
Succinobucol (AG-1067) AtheroGenics	Succinobucol	antioxidante	antioxidante não específico	Fase III
Darapladib; Glaxo Smith Kline	Lp-PLA2	inibidor de fosfolipase	modificação de lipoproteína; liberação de lipídeos bioativos	Fase III
Veliflapon (DG-031); DeCODEGenetics	5-LO	leucotrieno	inibe leucotrienos; reduz a atividade de LT na placa	Fase II
MLN1202; Millennium Pharmaceuticals	CCR2	via CCR2-CCL2	inibe a passagem de monócitos para dentro da placa aterosclerótica	Fase II

A FLA2-Lp é uma enzima produzida por glóbulos brancos, notavelmente macrófagos e linfócitos⁶⁹. Estudos epidemiológicos têm sugerido que um alto nível de FLA2-Lp é preditor forte e independente de mortalidade para doença arterial coronariana, mesmo após o ajuste para outras covariáveis^{70,71}, bem como se correlaciona com o aumento do risco de doença aterosclerótica⁷². Recentemente, a *US Food and Drug Administration* (FDA) aprovou um ensaio para mensurar os níveis de FLA2-Lp. O que precisa ser estabelecido, entretanto, é que a medida da redução da FLA2-Lp contribui para a redução de doença arterial coronariana, além de melhorar os fatores de risco tradicionais. Por exemplo, as terapias para redução de lipídeos, tais como as estatinas e o fenofibrato, têm demonstrado reduzir FLA2-Lp. Para ajudar a resolver essa questão, inibidores de FLA2-Lp têm sido desenvolvidos e estão, atualmente, sob avaliação como um potencial alvo terapêutico. Darapladib é um inibidor de FLA2-Lp seletivo que está sendo avaliado em pacientes com doença aterosclerótica cardiovascular⁷².

A FLA2s é uma proteína de fase aguda produzida pelos hepatócitos e células musculares lisas. O inibidor mais avançado dessa classe é varespladib, que tem sido estudado em ensaios clínicos de fase I e de fase II. Varespladib é um inibidor não seletivo que tem atividade sobre as isoformas FLA2s: grupo IIA FLA2s, grupo V FLA2s e grupo X FLA2s. Estas isoformas são altamente expressas em lesões ateroscleróticas, e acredita-se que tenha um papel importante na modificação de LDL a uma forma mais pró-aterogênica, e na geração de lipídeos inflamatórios e células espumosas^{72,73}.

3.3 Inibição de leucotrienos

Os leucotrienos (LT) são uma classe de eicosanoides que exercem efeitos pró-inflamatórios. Ao interagir com os seus receptores, os LT promovem o acúmulo de praticamente todos os subgrupos de leucócitos nos locais de inflamação. LT medeiam uma variedade de condições inflamatórias e alérgicas, incluindo artrite reumatoide, doença inflamatória do intestino, psoríase e rinite alérgica, e a sua implicação fisiopatológica mais relevante tem sido explorada no tratamento da asma brônquica⁷⁴. Diversos estudos em humanos e em animais têm demonstrado que a via do LT é importante para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose⁷⁵⁻⁷⁷.

O passo inicial na biossíntese dos leucotrienos é catalisada pela 5-lipoxigenase (5-LO) juntamente com a ação da proteína ativadora da 5-LO (FLAP)⁷⁶. A inibição de uma dessas enzimas resulta em menor produção de leucotrienos, portanto, menos inflamação. O inibidor de 5-LO de maior destaque é o VIA-2291, capaz de reduzir a produção de leucotrienos em pacientes com doença arterial coronariana, e dados de tomografia computadorizada sugerem que há uma melhora da aterosclerose⁷⁷. Da mesma forma, um inibidor da FLAP, DG-031 (veliflapon) reduziu significativamente de forma dose-dependente biomarcadores inflamatórios em pacientes que apresentavam uma predisposição genética para a ativação da via do LT. Em resposta ao tratamento, os pacientes apresentaram uma redução na produção de LT_{B4} e a atividade da mieloperoxidase (MPO) também foi reduzida⁷⁷.

3.4 Inibição da via da CCL2-CCR2

O recrutamento de monócitos pela interação entre a proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e o

receptor de quimiocina CC2 (CCR-2) é um importante passo no estágio inicial do desenvolvimento da placa e dessa forma representa um alvo terapêutico relevante⁷⁸. CCL2 é sintetizada pelas células que revestem a parede vascular, tais como células de músculo liso, células endoteliais e macrófagos, em resposta a mediadores pró-inflamatórios, tais como lipopolissacarídeos e TNF- α ⁷⁹. CCL2 recruta monócitos, células T de memória e células dendríticas para os locais de lesão tecidual e infecção. A expressão desta quimiocina pró-inflamatória é aumentada em lesões ateroscleróticas, e a inibição de sua expressão ou de seu receptor (CCR2) reduz a extensão da formação de ateromas em ratos hipercolesterolêmicos. Além disso, a deleção genética do receptor CCR2 reduz drasticamente o recrutamento de monócitos e o desenvolvimento de aterosclerose induzida por dieta⁸⁰.

MLN1202 é um anticorpo monoclonal direcionado ao CCR2. Um estudo de fase II demonstrou que o tratamento com esse anticorpo produziu redução significativa nos níveis de PCR em pacientes com risco de doença cardiovascular aterosclerótica⁸⁰. Até então, nenhum estudo foi iniciado para determinar se essa abordagem será capaz de reduzir a taxa de eventos cardiovasculares.

Conclusões

Diversos trabalhos mostram claramente que a aterosclerose e a formação de placa aterosclerótica, incluindo a ruptura da placa que leva a MACE, são processos inflamatórios que não são bem tratados pelas terapias cardiovasculares atuais – que incluem antitrombóticos, estatinas e anti-hipertensivos. Os ensaios clínicos com estatinas têm gerado evidências convincentes de que a redução do MACE é dependente de ambas as atividades: antilipêmica e anti-inflamatória. No entanto, estatinas e outros agentes terapêuticos cardiovasculares apenas retardam a progressão da doença aterosclerótica. É, portanto, claro que a próxima geração de estratégias terapêuticas vise à modificação da placa aterosclerótica, a fim de tratar diretamente a inflamação subjacente.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflitos de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Vinculação Acadêmica

Este artigo representa requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Cardiovasculares de Nádia Alice Vieira da Motta e Milla Machado Fumian pela Universidade Federal Fluminense.

Referências

1. Kyaw T, Tipping P, Toh BH, Bobik A. Current understanding of the role of B cell subsets and intimal and adventitial B cells in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2011;22(5):373-9.
2. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, et al; Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88(supl. 1):2-19.
3. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1976;295(7):369-77.
4. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis—an update. *N Engl J Med.* 1986;314(8):488-500.
5. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993;362(6423):801-9.
6. Ross R. George Lyman Duff Memorial Lecture. Atherosclerosis: a problem of the biology of arterial wall cells and their interactions with blood components. *Arteriosclerosis.* 1981;1(5):293-311.
7. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1987;316(22):1371-5.
8. Santos MG, Pegoraro M, Sandrini F, Macuco EC. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. *Arq Bras Cardiol.* 2008;90(4):301-8.
9. Libby P, Ross R. Cytokines and growth regulatory molecules. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease.* Vol. 1. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.585-94.
10. Raines EW, Rosenfeld ME, Ross R. The role of macrophages. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease.* Vol. 1. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.539-55.
11. Falk E, Shah PK, Fuster V. Pathogenesis of plaque disruption In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease.* Vol. 2. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.492-510.
12. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26.
13. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest.* 1991;88(6):1785-92.
14. Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med.* 2002;8(11):1211-7.

15. Rajman I, Eacho PI, Chowienczyk PJ, Ritter JM. LDL particle size: an important drug target? *Br J Clin Pharmacol.* 1999;48(2):125-33.
16. Gleissner CA, Leitinger N, Ley K. Effects of native and modified low-density lipoproteins on monocyte recruitment in atherosclerosis. *Hypertension.* 2007;50(2):276-83.
17. Li D, Mehta JL. Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells. *Circulation.* 2000;101(25):2889-95.
18. Shi W, Haberland ME, Jien ML, Shih DM, Lusis AJ. Endothelial responses to oxidized lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. *Circulation.* 2000;102(1):75-81.
19. Scott J. Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2004;14(3):271-9.
20. Hansson GK, Libby P, Schönbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res.* 2002;91(4):281-91.
21. Benjamin MM, Khalil RA. Matrix metalloproteinase inhibitors as investigative tools in the pathogenesis and management of vascular disease. *EXS.* 2012;103:209-79.
22. da Silva SH, Moresco RN. Cardiac biomarkers for assessment of acute coronary syndrome. *Sci Med.* 2011;21(3):132-42.
23. Berg G, Miksztoicz V, Schreier L. Metalloproteinases in metabolic syndrome. *Clin Chim Acta.* 2011;412(19-20):1731-9.
24. Ketelhuth DFJ, Bäck M. The role of matrix metalloproteinases in atherothrombosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2011;13(2):162-9.
25. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;94(6):2493-503.
26. Gough PJ, Gomez IG, Wille PT, Raines EW. Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2006;116(1):59-69.
27. Morishige K, Shimokawa H, Matsumoto Y, Eto Y, Uwatoku T, Abe K, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase-9 promotes intravascular thrombus formation in porcine coronary arteries in vivo. *Cardiovasc Res.* 2003;57(2):572-85.
28. De Servi S, Mariani M, Mariani G, Mazzone A. C-Reactive protein increase in unstable coronary disease cause or effect? *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(8):1496-502.
29. Aldous SJ. Cardiac biomarkers in acute myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2013;164(3):282-94.
30. Duffy JR, Salerno M. New blood test to measure heart attack risk C-reactive protein. *J Cardiovasc Nurs.* 2004;19(6):425-9.
31. Madjid M, Willerson JT. Inflammatory markers in coronary heart disease. *Br Med Bull.* 2011;100:23-38.
32. Verma S, Li SH, Badiwala MV, Weisel RD, Fedak PW, Li RK, et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation.* 2002;105(16):1890-6.
33. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002;106(12):1439-41.
34. Dadu RT, Nambi V, Ballantyne CM. Developing and assessing cardiovascular biomarkers. *Transl Res.* 2012;159(4):265-76.
35. Carnemolla R, Shuvaev VV, Muzykantov VR. Targeting antioxidant and antithrombotic biotherapeutics to endothelium. *Semin Thromb Hemost.* 2010;36(3):332-42.
36. Ribeiro F, Alves AJ, Teixeira M, Ribeiro V, Duarte JA, Oliveira J. Funcionalidade endotelial e aterosclerose: marcadores sanguíneos com utilidade clínica. *Rev Port Cardiol.* 2009;28(10):1121-51.
37. Mizuno Y, Jacob RF, Mason RP. Inflammation and the development of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18(5):351-8.
38. Huo Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand.* 2001;173(1):35-43.
39. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2010;20(2):87-103.
40. Vykoukal D, Davies MG. Vascular biology of metabolic syndrome. *J Vasc Surg.* 2011;54(3):819-31.
41. Barbosa MLC, Fumian MM, Miranda ALP, Barreiro EJ, Lima LM. Therapeutic approaches for tumor necrosis factor inhibition. *Braz J Pharm Sci.* 2011;47(3):427-46.
42. Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Sandhofer A, Weiss H, Nehoda H, et al. Markers of chronic inflammation and obesity: a prospective study on the reversibility of this association in middle-aged women undergoing weight loss by surgical intervention. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26(5):659-62.
43. González M, Ruiz-Ros JA, Pérez-Paredes M, Lozano ML, García-Almagro FJ, Martínez-Corbalán F, et al. [Prognostic value of tumor necrosis factor-alpha in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction]. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60(12):1233-41.
44. Chen X, Lu J, Bao J, Guo J, Shi J, Wang Y. Adiponectin: a biomarker for rheumatoid arthritis? *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(1):83-9.
45. Siiteri PK. Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr.* 1987;45(1 Suppl):277-82.
46. Ahima RS. Metabolic actions of adipocyte hormones: focus on adiponectin. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14(Suppl 1):9S-15.
47. Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: a novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2563-8.
48. Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem.* 2008;54(1):24-38.

49. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta*. 2007;380(1-2):24-30.
50. Ouchi N, Kihara Y, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000;102(11):1296-301.
51. Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2003;278(45):45021-6.
52. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol*. 2011;12(3):204-12.
53. Adibhatla RM, Dempsy R, Hatcher JF. Integration of cytokine biology and lipid metabolism in stroke. *Front Biosci*. 2008;13:1250-70.
54. Ikeda U, Ikeda M, Seino Y, Takahashi M, Kano S, Shimada K. Interleukin 6 gene transcripts are expressed in atherosclerotic lesions of genetically hyperlipidemic rabbits. *Atherosclerosis*. 1992;92(2-3):213-8.
55. Gomes MAM, Macêdo Neto NC, Bispo IGA. Interleucina-6, moléculas de adesão intercelular-1 e microalbuminúria na avaliação da lesão endotelial: revisão de literatura. *Rev SOCERJ*. 2009;22(6):398-406.
56. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000;101(15):1767-72.
57. Mach F, Schönbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94(5):1931-6.
58. Schönbeck U, Mach F, Sukhova GK, Atkinson E, Levesgue E, Herman M, et al. Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40 ligand signaling in vitro and in vivo. *J Exp Med*. 1999;189(5):843-53.
59. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Atkinson E, Libby P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. *Nature*. 1998;394(6689):200-3.
60. Apple FS, Wu AH, Mair J, Ravkilde J, Panteghini M, Tate J, et al; Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the IFCC. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem*. 2005;51(5):810-24.
61. Libby P, Ridker PM. Inflammation and atherothrombosis: from population biology and bench research to clinical practice. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(9 Suppl 1):A33-46.
62. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al; Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Investigators. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2004;350(15):1495-504. Erratum in: *N Engl J Cardiol*. 2006;354(7):778.
63. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, et al; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet*. 2001;358(9281):527-33.
64. Charo IF, Taub R. Anti-inflammatory therapeutics for the treatment of atherosclerosis. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10(5):365-76.
65. Tardif JC, McMurray JJ, Klug E, Small R, Schumi J, Choi J, et al; Aggressive Reduction of Inflammation Stops Events (ARISE) Trial Investigators. Effects of succinobucol (AGI-1067) after an acute coronary syndrome: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;371(9626):1761-8.
66. Tardif JC, Grégoire J, L'Allier PL, Ibrahim R, Anderson TJ, Reeves F, et al; CART-2 Investigators. Effects of the antioxidant succinobucol (AGI-1067) on human atherosclerosis in a randomized clinical trial. *Atherosclerosis*. 2008;197(1):480-6.
67. Corson MA. Phospholipase A2 inhibitors in atherosclerosis: the race is on. *Lancet*. 2009;373(9664):608-10.
68. Lp-PLA(2) Studies Collaboration, Thompson A, Gao P, Orfei L, Watson S, Di Angelantonio E, Kaptoge S, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9725):1536-44.
69. Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(5):923-31.
70. Kolodgie FD, Burke AP, Skoriya KS, Ladich E, Kutys R, Makuria AT, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(11):2523-9.
71. Wilensky RL, Shi Y, Mohler ER 3rd, Hamamdzcic D, Burgert ME, Li J, et al. Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2 reduces complex coronary atherosclerotic plaque development. *Nat Med*. 2008;14(10):1059-66.
72. Rosenson RS. Future role for selective phospholipase A2 inhibitors in the prevention of atherosclerotic cardiovascular disease. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009;23(1):93-101.
73. Rosenson RS, Elliott M, Stasiv Y, Hislop C; PLASMA II Investigators. Randomized trial of an inhibitor of secretory phospholipase A2 on atherogenic lipoprotein subclasses in statin-treated patients with coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2011;32(8):999-1005.
74. Peters-Golden M, Henderson WR Jr. Leukotrienes. *N Engl J Med*. 2007;357(18):1841-54.

Artigo de Revisão

75. Funk CD. Leukotriene inflammatory mediators meet their match. *Sci Transl Med.* 2011;3(66):66ps3.
76. Tardif JC, L'Allier PL, Ibrahim R, Grégoire JC, Nozza A, Cossette M, et al. Treatment with 5-lipoxygenase inhibitor VIA-2291 (Atreleuton) in patients with recent acute coronary syndrome. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2010;3(3):298-307.
77. Hakonarson H, Thorvaldsson S, Helgadottir A, Gudbjartsson D, Zink F, Andresdottir M, et al. Effects of a 5-lipoxygenase-activating protein inhibitor on biomarkers associated with risk of myocardial infarction: a randomized trial. *JAMA.* 2005;293(18):2245-56.
78. Peters W, Charo IF. Involvement of chemokine receptor 2 and its ligand, monocyte chemoattractant protein-1, in the development of atherosclerosis: lessons from knockout mice. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12(2):175-80.
79. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest.* 1991;88(4):1121-7.
80. Gilbert J, Lekstrom-Himes J, Donaldson D, Lee Y, Hu M, Xu J, et al; MLN1202 Study Group. Effect of CC chemokine receptor 2 CCR2 blockade on serum C-reactive protein in individuals at atherosclerotic risk and with a single nucleotide polymorphism of the monocyte chemoattractant protein-1 promoter region. *Am J Cardiol.* 2011;107(6):906-11.