

Efecto de la modulación de PPAR γ sobre la vía reversa del colesterol

Mónica María Díaz López, DDS, MSc*

Daniel Mauricio Serrano Triana,* ¶

Iván Efraín Martínez Forero, MD, Eng*,

Darío Echeverri Arcila, MD§

Lorena Buitrago, MB, MSc§

Fernando Lizcano Losada, MD, PhD* §

Resumen

Introducción: El receptor nuclear LXR α (liver receptor X alfa) tiene un efecto benéfico en la vía reversa de colesterol y revierte algunas anomalías del metabolismo lipídico relacionadas con el riesgo cardiovascular. Su actividad es en parte modulada positivamente por los agonistas del receptor nuclear PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma), utilizados para la terapia de la diabetes tipo 2. **Objetivo:** Observar la expresión de LXR α y algunos de los genes que regula, tras la utilización de un agonista de PPAR γ en condiciones de bajo nivel de estrógenos. **Método:** 18 conejas New Zealand fueron sometidas a ooforectomía quirúrgica. Luego se seleccionaron aleatoriamente 3 grupos. En dos grupos, se manejó una dieta hipercolesterolémica durante 3 semanas alternando con dieta normal para un total de 24 semanas, a uno de estos grupos, se le administró placebo (grupo 1, n=6) y a otro rosiglitazona 3 mg/Kg/día (grupo 2, n=6). El tercer grupo se tomó como grupo control con dieta normal. Se determinó la expresión de los genes de *lxra*, *abca1* e *il-1 β* mediante RT-PCR. **Resultados:** Se observó un incremento en los niveles de LXR α en hígado, pero no se observó variación de ABCA1 en arteria, con disminución de IL-1 β en arteria tras la terapia con rosiglitazona. **Conclusión:** La activación de PPAR γ aumenta la función de LXR α en ausencia de estrógenos. Sin embargo algunos efectos benéficos de PPAR γ en la vía reversa de colesterol podría tener una vía alterna a la de LXR α /ABCA1. [Díaz M, Serrano D, Martínez I, Echeverri D, Buitrago L, Lizcano F. Efecto de la modulación de PPAR γ sobre la vía reversa del colesterol. MedUNAB 2006; 9:192-197].

Palabras clave: Vía reversa del colesterol, LXR α , ABCA1, IL1 β , PPAR γ , rosiglitazona.

Summary

Introduction: Nuclear receptor LXR α (liver X receptor alpha) has a beneficial effect on the reverse pathway of cholesterol and reverts some defects in the lipid metabolism that are related with cardiovascular risk. LXR α activity is modulated by agonists of the nuclear receptor PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma), that are used for type 2 Diabetes treatment. **Objective:** To observe LXR α gene expression and some genes that it regulates, after the treatment with a PPAR γ agonist in the absence of estrogens. **Method:** 18 New Zealand female rabbits were oophorectomized. Three groups selected themselves randomly. In two groups, were treated with hypercholesterolemic diet during 3 weeks alternating with normal diet for a total of 24 weeks, to one of these groups, administered placebo (group 1, n=6) and to another one rosiglitazone 3 mg/Kg/día (group 2, n=6). The third group took like group control with normal diet. The expression of the genes of *lxra*, *abca1* and *il-1 β* was determined by means of RT-PCR. **Results:** An increase in LXR α mRNA expression was observed in liver, without any variation in ABCA1 in artery. A reduction on IL-1 β levels in artery after rosiglitazone therapy was observed. **Conclusion:** PPAR γ activation increases LXR α function in the absence of estrogens. However PPAR γ might execute some beneficial effect on reverse cholesterol pathway in a different route from LXR α /ABCA1 pathway. [Díaz M, Serrano D, Martínez I, Echeverri D, Buitrago L, Lizcano F. Effect of the PPAR γ modulation on the reverse pathway of cholesterol. MedUNAB 2006; 9:192-197].

Key words: Reverse pathway of cholesterol, LXR α , ABCA1, IL1 β , PPAR γ , rosiglitazone.

*Centro de Investigaciones Biomédicas Universidad de La Sabana (CIBUS), Chía, Colombia.

¶ Estudiante, Facultad de Medicina, Universidad de la Sabana, Chía, Colombia.

§ Laboratorio de Función Vascular, Fundación Cardio-Infantil Instituto de Cardiología, Bogotá, Colombia.

Correspondencia: Dr. Lizcano Losada. Centro de Investigaciones Biomédicas Universidad de La Sabana (Cibus). Universidad de La Sabana. Campus Universitario Puente del Común Km. 21 Autopista Norte. Chía. Cundinamarca. Colombia. e-mail: fernando.lizcano@unisabana.edu.co.

Artículo recibido: 12 de septiembre de 2006; aceptado: 26 de octubre de 2006.

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares incluyendo las cerebrovasculares son la causa del 39% de muertes en Estados Unidos.¹ Algunos factores importantes en la aparición de enfermedad cardiovascular involucran aquellos relacionados con el gasto calórico a nivel mitocondrial, la regulación neuroendocrina de los centros de hambre y saciedad, la presencia de factores inflamatorios y adipocitoquinas, junto con algunos factores externos como el estilo de vida sedentario y disminución en la actividad física propio de las sociedades modernas.²

Desde hace unos años toda la cadena de secuelas generadas por factores genéticos, sedentarismo, obesidad y sus consecuencias se han agrupado en el denominado síndrome metabólico.³ Desde hace varios decenios los estudios epidemiológicos han identificado niveles altos de colesterol total especialmente del contenido de las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) en el desarrollo de enfermedad vascular.⁴ No obstante el descenso del colesterol de alta densidad HDL (lipoproteína de alta densidad) ha despertado especial interés últimamente,⁵ pues sus niveles bajos son la característica del síndrome metabólico⁶ y un aumento farmacológico tendría la posibilidad de transportar el colesterol desde la pared arterial hacia el hígado y así disminuir el riesgo cardiovascular.⁷

Los fármacos hipolipemiantes utilizados en la actualidad disminuyen los niveles de LDL y sólo elevan un porcentaje pequeño de HDL, bajo estas circunstancias sólo previenen entre el 45 al 50% de los eventos cardiovasculares.⁷ Es por ello que estrategias terapéuticas alternas como una mayor actividad en la vía reversa del colesterol ha despertado especial interés.⁸ En este tipo de transporte reverso las lipoproteínas HDL juegan un papel importante⁹ ya que extraen el exceso de colesterol de las células periféricas y lo transportan al hígado donde puede ser utilizado para la producción de ácidos biliares.¹⁰

Estudios funcionales en ratones han demostrado que una mayor actividad de la proteína LXR α (liver X receptor alpha) aumenta los niveles de HDL e inhibe la absorción intestinal de colesterol.^{11,12} LXR α es un factor de la transcripción que pertenece a la super-familia de receptores nucleares con un papel fundamental como regulador del metabolismo de lípidos en el hígado, tejido adiposo y macrófagos.¹³ LXR α se expresa en hígado, intestino, adipocitos y macrófagos, mientras su homólogo LXR β es expresado en todos los tejidos.⁵ LXR α es activado por ligandos endógenos como los derivados esteroides 22(R)-hidroxicolessterol y 24(R)-hidroxicolessterol.⁶ Varios estudios han demostrado que el gen de *lxra* tiene en el promotor elementos de respuesta para PPAR γ , cuyos agonistas podrían favorecer el transporte de colesterol desde los tejidos hacia el hígado donde es utilizado en diferentes vías metabólicas,⁷ hecho que disminuye la probabilidad de aparición de aterosclerosis al reducir la disponibilidad de colesterol en la pared arterial.¹⁴

Los genes regulados por LXR α son entre otros los que codifican para la proteína ABCA1 (ATP binding cassette 1), proteína que a través de la membrana celular transporta colesterol y lipoproteínas, reduciendo la carga de lípidos en las células espumosas (eflujo de colesterol).¹⁵ Este paso se considera crítico en la

del transporte reverso del colesterol, ya que permite la captación de lípidos por parte de las lipoproteínas HDL^{8,14} para realizar un transporte de estos lípidos hacia el hígado.¹⁵

LXR α también está implicado en el control de la inflamación.¹⁶ Se ha observado que algunos agonistas sintéticos de LXR α disminuyen la expresión de los genes de las proteínas IL-1 β (interleukin-1beta), IL-6 (interleukin 6), COX-2 (cyclooxygenase 2) y MMP-9 (matriz metalloproteinase 9) implicadas en el desarrollo de aterosclerosis.^{10,16} Por lo tanto, LXR α actúa sobre los dos componentes principales del origen de aterosclerosis como son el metabolismo de los lípidos y la inflamación.¹⁶ En este estudio se valoró el efecto de compuestos como la rosiglitazona un agonista sintético del receptor nuclear PPAR γ que tiene un efecto conocido en la terapia de la diabetes mellitus tipo 2 y un posible efecto sobre la reducción de aterosclerosis.

Métodos

Se realizó un estudio experimental aleatorizado que fue aprobado por los Comités de Ética en Investigación Animal de la Fundación Cardio-Infantil y la Universidad de La Sabana.

Conejos: Un grupo de 18 conejos hembras New Zealand fueron escogidas para realización del estudio. A todas se les realizó ooforectomía quirúrgica. Luego se seleccionaron aleatoriamente 3 grupos. En dos de los grupos, se administró una dieta hipercolesterolémica (suplemento de colesterol al 2%) durante 3 semanas alternando con dieta normal para un total de 24 semanas. Este modelo experimental ha mostrado en observaciones previas producir lesiones con abundante depósito de colesterol en macrófagos y células espumosas.¹⁷ Los dos grupos recibieron diferente tratamiento: con placebo (grupo 1, n=6) o rosiglitazona 3 mg/Kg/día (grupo 2, n=6). Esta dosis de rosiglitazona ha sido reportada previamente como la adecuada para modelos animales en condiciones de hipercolesterolemia.¹⁸ El tercer grupo tomó una dieta normal y fue denominado como grupo control (grupo 3, n=6). Una vez realizada la eutanasia de los animales, bajo sedación (ketamina 30 mg/kg por vía intramuscular), con sobredosis de Pentotal por vía intravenosa (150 mg/kg) se aislaron la aorta torácica y fragmentos de hígado de 2 cm, cada uno como se ha descrito previamente.^{17,19}

RT-PCR: Las muestras de tejido fueron colocadas en nitrógeno líquido, y se llevó a cabo el protocolo de extracción de ARN total empleando TRIzol[®] (Invitrogen), se describe en breve: se usaron 50 mg de tejido previamente homogenizado por maceración, se efectuó la fase de separación, con Cloroformo y se precipitó el ARN con Isopropanol, seguido de un lavado con Etanol al 75%. Posteriormente, se realizó un secado del ARN y el "pellet" se disolvió en 50 μ L de agua DEPC y se incubó a 50 °C por 10 minutos. Posteriormente se hizo la lectura espectrofotométrica con un radio de absorbancia de 260/280 nm. En cada muestra se igualó la concentración a 1 μ g/ μ L, con el fin de realizar la técnica de RT-PCR; adicionalmente se realizó la verificación de la integridad por electroforesis, visualizando las bandas de arn r(28S/18S), empleando un gel de agarosa 1.2% con 0,6 M de formaldehído. Una vez tomado 1 μ g/ μ L de ARNm y 2,5 μ L del iniciador específico, se adicionó 4 μ L de agua libre de ARNasas, 10 μ L de Buffer First

strand, 5 μ L de DDT 0.1M, 16 μ L de dNTPs, 1 μ L de ARN sin y 1 μ L de MMLV. Se completa un volumen de 50 μ L, se lleva a termociclador Icyclor (BioRad) por 1 hora a 37 $^{\circ}$ C, seguido por un paso de 10 minutos a 95 $^{\circ}$ C para desnaturalizar la enzima y se agregan 100 μ L de agua destilada y se guardaron a -20 $^{\circ}$ C. Se realizó una selección de iniciadores a través del software Amplify³. Los iniciadores fueron seleccionados de acuerdo con los siguientes parámetros: Longitud entre 18 y 25 pb, Tm comprendida entre 57 y 65 $^{\circ}$ C, Tm óptima de 60-62 $^{\circ}$ C. La longitud de fragmentos de amplificación estuvo entre 300 y 600 pb. Para determinar la especificidad, los segmentos fueron comparados con el GenBank, empleando el programa Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov). En los casos en que los iniciadores mostraron homología con secuencias diferentes a las de interés, fueron descartados. Se realizó la síntesis de cada uno de los iniciadores en una escala de 50nm. Se verificó la amplificación de cada segmento mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%. Las condiciones de PCR fueron las siguientes:

Iniciadores LXR α :

Sentido: 5'-CTT CCA CTA CAA TGT TCT GAG CTG C-3'
 Antisentido: 5'-GGC AGC GAC GAG CTT CTC GAT CAT G-3'
 Tamaño esperado: 655 pb.

El programa para la amplificación fue desnaturalización inicial: 94 $^{\circ}$ C por 10 m, 30 ciclos, repetidos así: desnaturalización a 94 $^{\circ}$ C por 1 m, alineamiento a 55 $^{\circ}$ C por 1 m, extensión a 72 $^{\circ}$ C por 2 m, continuando con extensión final a 72 $^{\circ}$ C por 7 m.

Iniciadores ABCA1:

Sentido: 5'-GTT CTC AGA TGC TCG GAG GCT TCT T-3'
 Antisentido: 5'-GAC AAT ACG AGA CAC AGC CTG GTA G-3'
 Tamaño esperado: 609 pb.

Programa para la amplificación fue desnaturalización inicial: 94 $^{\circ}$ C por 5 m, 35 ciclos repetidos así: desnaturalización a 94 $^{\circ}$ C por 30 s, alineamiento a 57 $^{\circ}$ C por 30 s, extensión a 72 $^{\circ}$ C por 1 m, continuando con extensión final a 72 $^{\circ}$ C por 7 m.

Iniciadores IL-1 β :

Sentido: 5'-ATG GCA ACT GTT CCT GAA CTC AAC T-3'
 Antisentido: 5'-CAG GAC AGG TAT AGA TTCTTT CCT TT-3'
 Tamaño esperado: 563 bp.

Programa para la amplificación fue desnaturalización inicial: 94 $^{\circ}$ C por 1 m, 35 ciclos repetidos así: desnaturalización a 94 $^{\circ}$ C por 45 s, alineamiento a 60 $^{\circ}$ C por 45 s, extensión a 72 $^{\circ}$ C por 2 m, continuando con extensión final a 72 $^{\circ}$ C por 7 m.

Iniciadores b-actina:

Sentido: 5'-CCT AAG GCC AAC CGT GAA AAG -3'
 Antisentido: 5'-TCT TCA TGG TGC TAG GAG CCA -3'
 Tamaño esperado: 645 bp.

Programa para la amplificación fue desnaturalización inicial: 95 $^{\circ}$ C por 5 m, 30 ciclos repetidos así: desnaturalización a 95 $^{\circ}$ C por 30 s, alineamiento a 54 $^{\circ}$ C por 1 s, extensión a 72 $^{\circ}$ C por 1m, continuando con extensión final a 72 $^{\circ}$ C por 7m.

Los parámetros de comparación del producto de PCR de los diferentes grupos se realizaron en forma semicuantitativa estandarizando el número de los ciclos, las concentraciones de ADNc (2 g) e iniciadores (50 pM) para conseguir la amplificación en cada grupo de iniciadores para que la visualización en el gel de agarosa fuese la adecuada. En forma posterior se tomaron los niveles de la expresión del gen de β -actina como control.

Se obtuvieron las imágenes con la cámara digital Nikon Coolpix 5400 y la cuantificación de las bandas fue realizada con el software Image J Versión 4. La intensidad de la banda fue expresada como unidades relativas de absorbancia. La relación entre la muestra de ARNm a ser determinada y la β -actina, fue calculada para normalizar las variaciones iniciales en la concentración de la muestra y como un control para la eficiencia de la reacción. La media y desviación estándar de todos los experimentos se calcularon después de la normalización con β -actina. Se realizó cada experimento por triplicado en tres ocasiones diferentes. Luego se efectuó un análisis estadístico mediante metodología no paramétrica a través del programa estadístico Statview®.

Resultados

Después de la ooforectomía los niveles de estradiol se redujeron en un 50% en comparación con los niveles previos a la intervención (98,2 \pm 11,0 vs 51,6 \pm 4,9 pg/ml; p<0,0056).

RT-PCR. El valor de la expresión promedio relativa del ARNm de LXR α en hígado fue de 1,1 en el grupo con dieta normal; de 1,45 en el grupo con dieta hipercolesterolémica y de 1,9 en el grupo bajo terapia con rosiglitazona, se observó diferencias significativas entre el grupo tratado con rosiglitazona respecto a los grupos que tomaron dieta hipercolesterolémica y los que tuvieron dieta normal (p<0,05 y p<0,01). Estos resultados corroboran el efecto positivo que tiene la elevación del colesterol sobre la modulación de la expresión de este gen y el posterior efecto positivo de rosiglitazona (figura 1).

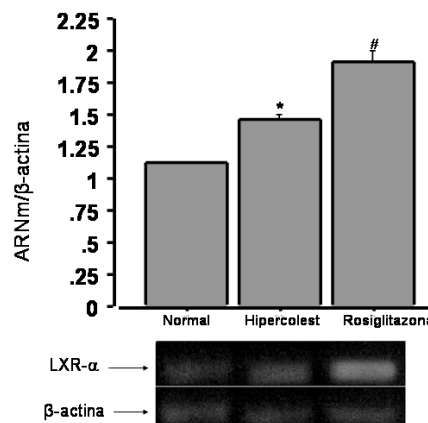


Figura 1. La expresión del gen de LXR α a nivel de hígado observado mediante RT-PCR evidencia el papel inductor que tiene el colesterol y rosiglitazona. # p<0.01 respecto a los normales y *p<0.05 respecto a hipercolesterolemia.

Al realizar la valoración de la expresión del ARNm de ABCA1 en pared arterial, se observó que en el grupo control la expresión relativa fue de 1,4; mientras fue de 2,2 en el grupo con dieta hipercolesterolémica y de 2 en los que fueron tratados con rosiglitazona. De esta forma en pared arterial se evidenció un aumento significativo tras la terapia con rosiglitazona y dieta hipercolesterolémica en relación al grupo control ($p < 0,05$), sin embargo no observamos un aumento adicional tras la administración de rosiglitazona respecto a dieta hipercolesterolémica (figura 2).

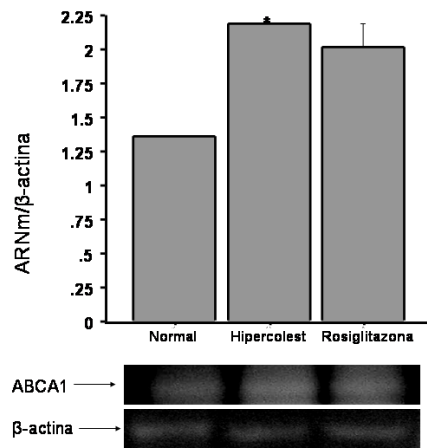


Figura 2. La expresión de ABCA1 observada mediante RT-PCR es incrementada por los niveles altos de colesterol a nivel de la pared arterial. No obstante la administración posterior de rosiglitazona no tiene un efecto ulterior sobre su expresión. * $p < 0,05$ respecto a los niveles normales.

Dado que la enfermedad cardiovascular tiene un componente inflamatorio importante se evaluó el comportamiento del gen de IL-1 β . En pared arterial se observó un claro aumento de IL-1 β con dieta hipercolesterolémica en relación al grupo control (2,2 vs. 1,6) aunque no fue significativo. En forma sorprendente vemos que rosiglitazona disminuye en forma significativa los niveles de IL-1 β en relación al grupo que está con dieta hipercolesterolémica (1,05 vs. 2,2; $p < 0,05$; figura 3).

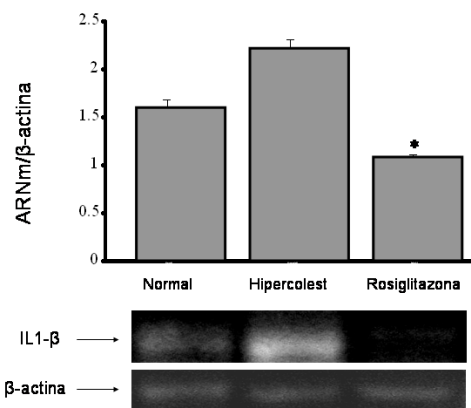


Figura 3. Los niveles de IL-1 α se reducen con la administración de rosiglitazona en una forma significativa. Hay que destacar el incremento que induce la dieta hipercolesterolémica sobre la expresión de IL- α en la pared arterial. * $p < 0,05$.

Discusión

En este estudio, se utilizó el modelo de conejas ooforectomizadas para reflejar la condición hipoestrogénica de la mujer postmenopáusica y así valorar posibles efectos funcionales sobre la vía reversa del colesterol modulada por LXR α , pues existe una fuerte asociación entre edad temprana de la menopausia y el incremento de riesgo para la enfermedad coronaria.²¹ Adicionalmente, PPAR γ y ER α (receptor de estrógenos alfa) tienen elementos de respuesta similares sobre los genes por ellos regulados.²² Los estudios del efecto de estrógenos sobre la expresión de LXR α son escasos y en cierto modo contradictorios pues mientras en tejido adiposo los estrógenos aumentan los niveles de LXR α en los macrófagos hay una disminución importante.²³

Nuestro estudio es novedoso en el sentido que se valoró las circunstancias de la vía retrógrada del colesterol en condiciones de bajo nivel de estrógenos. Los resultados observados revelan que una dieta hipercolesterolémica eleva en forma significativa los niveles de LXR α en el hígado de las conejas ooforectomizadas. Bajo estas mismas condiciones de bajo nivel de estrógenos, la administración de un agonista de PPAR γ como rosiglitazona tiene un efecto estimulador adicional sobre los niveles de LXR α .⁹

Nuestras observaciones arrojan evidencias importantes del papel protector que podría tener la rosiglitazona sobre el riesgo cardiovascular en mujeres postmenopáusicas. Sin embargo, una duda que surge acerca de la activación de PPAR γ y su papel protector cardiovascular es si la función está restringida a la estimulación de LXR α ya que existe una vía alterna para la vía retrógrada de colesterol que no incluye la activación de LXR α .²⁴ Es por esto que estudiamos el papel de la rosiglitazona sobre la expresión de la proteína ABCA1, que es regulada directamente por LXR α en la pared arterial. Aunque la dieta hipercolesterolémica aumenta los niveles de ABCA1, la adición de rosiglitazona no tiene un efecto significativo sobre su expresión.

Desde un punto de vista molecular un incremento de la actividad de PPAR γ mediante un ligando exógeno, en forma indirecta aumenta los niveles de LXR α y por lo tanto, aumentan la vía reversa del colesterol. De este modo tanto PPAR γ y LXR α cooperan para inducir la expresión de ABCA1 quien transporta colesterol y lipoproteínas, e induce la pérdida de lípidos en células espumosas y es antagonista en la formación de estria grasa.²⁵ No obstante, existen observaciones previas in vitro que muestran un aumento de ABCA1 tanto en pared arterial como en células espumosas tras la adición de agonistas de PPAR γ , nosotros no observamos en las conejas ooforectomizadas una elevación de ABCA1 luego de la administración de rosiglitazona. Es posible que el aumento de ABCA1 es lo suficientemente alto luego de la dieta hipercolesterolémica, por lo que una estimulación adicional por rosiglitazona no tiene efecto sobre su expresión. Sin embargo, no se descarta que los estrógenos puedan tener algún efecto específico en esta vía de activación.

Así mismo, la activación de PPAR γ podría tener una vía alterna a la de LXR α /ABCA1, como por ejemplo la esterificación de colesterol o la estimulación de otras moléculas como el trans-

portador ABCG1, que juega un papel clave en la regulación del colesterol celular y homeostasis lipídica.²⁶ La elucidación de mecanismos moleculares por el que ABCG1 controla el flujo de esteroides²⁷ puede proveer en el futuro una información crítica que puede vincular ABCG1 a la vía del transporte reverso del colesterol o enfermedades tales como la aterosclerosis.²⁸

La reducción de IL-1 β inducida por rosiglitazona es un hallazgo importante, pues los factores inflamatorios son significativos en las complicaciones cardiovasculares²⁹ y además, LXR α puede disminuir la reacción inflamatoria en los macrófagos.³⁰ Teniendo en cuenta estas observaciones la reducción de IL-1 β puede cooperar con el efecto benéfico que posee rosiglitazona en la aparición de la placa aterosclerótica.³¹

Los ligandos de PPAR γ y LXR α en forma independiente podrían promover en forma aditiva el eflujo del colesterol desde los macrófagos, de hecho PPAR γ aumenta los niveles de ABCG1 en forma independiente de LXR α , por lo cual se considera que potenciales agonistas de PPAR γ y LXR α conjuntamente podrían ser importantes modificadores de la vía de transporte reverso del colesterol.³²

En conclusión este estudio destaca la importancia de la estimulación de los receptores PPAR γ en la vía reversa del colesterol. No obstante la vinculación de este receptor con la disminución del riesgo cardiovascular podría incluir vías diferentes a la estimulación que ejerce sobre el receptor nuclear LXR α .

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de la Clínica de Pequeños Animales de la Universidad de la Salle por el mantenimiento de los animales en condiciones de experimentación.

Conflictos de interés

La rosiglitazona fue adquirida a través del producto comercial de GlaxoSmithKline (Avandia[®]), no existe en ningún momento una relación de la investigación con el laboratorio, y no existió apoyo financiero del mismo para llevar a cabo este trabajo.

Este trabajo contó con la financiación obtenida dentro de la segunda convocatoria interna de la Facultad de Medicina de la Universidad de la Sabana.

Referencias

1. Anderson RN, Smith BL. Deaths: leading causes for 2001. *Natl Vital Stat Rep* 2003; 52:1-85.
2. National Center for Health Statistics. Health, United States. Hyattsville, Md: National Center for Health Statistics; [serial online] 2003 [citado 14 Sep 2005]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nchs/hs.htm>.
3. Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33: 283-303.
4. Steffensen KR, Gustafsson J-A. Putative metabolic effects of the liver X receptor. *Diabetes* 2004; 53:S36-42.
5. Lund EG, Menke JG, Sparrow CP. Liver X Receptor as potential therapeutic agents for dyslipidemia and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23:1169-77.
6. Ricote M, Valledor AF, Glass CK. Decoding transcriptional programs regulated by PPARs and LXRs in the macrophages: Effects on lipid homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:230-39.
7. Bewer HB. Increasing HDL cholesterol levels. *N Engl J Med* 2004; 350:1491-4.
8. Yokoyama S. Assembly of high density lipoprotein by the ABCA1/apolipoprotein pathway. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16: 269-79.
9. McGovern ME. Taking aim at HDL-C, Raising levels to reduce cardiovascular risk. Symposium on Dyslipidemia; [serial online] 2005 April [citado 15 Sep 2005]; 117:4. Disponible en: http://www.postgradmed.com/issues/2005/04_05/mcgovern.htm.
10. Oram JF. HDL Apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:720-27.
11. Lund EG, Menke JG, Sparrow CP. Liver X receptor agonists as potential therapeutic agents for dyslipidemia and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:169-77.
12. Levin N, Bischoff ED, Daige CL, Thomas D, Vu CT, Heyman RA, et al. Macrophage liver X receptor is required for antiatherogenic activity of lxr agonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:135-42.
13. Joseph SB, Tontonoz P. LXRs: new therapeutic targets in atherosclerosis? *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3:192-97.
14. Venkateswaran A, Laffitte BA, Joseph SB. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:12097-102.
15. Laffitte BA, Reppa JJ, Joseph SB. LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:507-12.
16. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, Mangelsdorf DJ, Tontonoz P. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med* 2003; 9:213-9.
17. Porras JC, Zambrano C, Echeverri D, Fontanilla MR. Aislamiento y caracterización de macrófagos-células espumosas a partir de aorta de un modelo de aterosclerosis en conejo hipercolesterolémico. *Biomédica* 2003; 23:476-85.
18. Tao L, Liu H-R, Gao E, Teng ZH, Lopez BL, Christopher TA, et al. Antioxidative, antinflammatory and vasculoprotective effects of a Peroxisome-Proliferator-Activated Receptor agonist in hypercholesterolemia. *Circulation* 2003; 108:2805-11.

19. Abela GS, Picon PD, Friedl SE, Gebara OC, Miyamoto A, Federman M, et al. Triggering of plaque disruption and arterial thrombosis in an atherosclerotic rabbit model. *Circulation* 1995; 91:776-84.
20. Brewer HB. High-density lipoproteins: A new potential therapeutic target for the prevention of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:387-91.
21. Barret-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA* 1991; 265:1861-7.
22. Kramer PR, Wray S. 17-Beta-estradiol regulates expression of genes that function in macrophage activation and cholesterol homeostasis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 81: 203-16.
23. Ludholm L, Moverare S, Steffensen KR, et al. Gene expression profiling identifies liver X receptor alpha as an estrogen-regulated gene in mouse adipose tissue. *J Mol Endocrinol* 2004; 32: 879-92.
24. Li AC, Binder CJ, Gutierrez A, Brown KK, Plotkin CR, Pattison JW, et al. Differential inhibition of macrophage foam-cell formation and atherosclerosis in mice by PPAR alpha, beta y gamma. *J Clin Invest* 2004; 114:1564-76.
25. Watanabe Y, Jiang S, Takabe W, Ohashi R, Tanaka T, Uchiyama Y, et al. Expression of the LXR protein in human atherosclerosis lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:622- 7.
26. Laffitte BA, Chao LC, Li J. Activation of Liver receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:5419-24.
27. Klappacher GW, Glass CK. Roles of peroxisome proliferator-activated receptor/g in lipid homeostasis and inflammatory responses of macrophages. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:305-12.
28. Shulman AI, Mangelsdorf DJ. Retinoid X receptor heterodimers in the metabolic syndrome. *N Engl J Med*. 2005; 353:604-15.
29. Glass CK. Going nuclear in metabolic and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2006; 116: 556-60.
30. Bradley MN, Tontonoz P. Lesion macrophages are a key target for the antiatherogenic Effects of LXR agonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:10-1.
31. Francis GA, Annicote J-S, Auwerx J. PPAR agonists in the treatment of atherosclerosis. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3:186-91.
32. Bramlett KS, Houck KA, Borchert KM, Dowless MS, Kulanthivel P, Zhang Y, et al. A natural product ligand of the oxysterol receptor, liver X receptor. *J Pharm Exp Therap*. 2003; 307:291-6.