

REVIEW

PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTORS (PPARS), SINDROME METABOLICA E ATEROSCLEROSI

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARS), metabolic syndrom and atherosclerosis

SIMONA D'AMORE^{1,2}, GIUSEPPE PALASCIANO¹, ANTONIO MOSCHETTA^{1,2,3}

¹*Clinica Medica "Augusto Murri", Università degli Studi di Bari "Aldo Moro";*

²*Laboratorio del Metabolismo Lipidico e Tumorale, Consorzio Mario Negri Sud, Santa Maria Imbaro (Chieti);*

³*Istituto Tumori "Giovanni Paolo II", IRCCS Ospedale Oncologico di Bari*

SUMMARY

The Metabolic Syndrome (MS) is a complex disease, characterized by the association of metabolic risk factors for cardiovascular disease. The management of MS is achieved through the use of combination therapy that improves individual features of MS, but has a limited effectiveness in the prevention of cardiovascular complications.

Thus, a more detailed knowledge of the events that lead to MS is mandatory for the identification of novel therapies. Nuclear receptors are ligand-dependent transcription factors, that are directly involved in the modulation of cellular responses to metabolic, hormonal and nutritional stimuli. They represent promising pharmacological targets for the treatment of atherogenic dyslipidemia and insulin resistance. Among the nuclear receptors, the "fatty acids sensors" peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) regulate the expression of genes involved in the control of carbohydrate and lipid metabolism, and of inflammation.

These features make PPARs ideal targets for the development of new therapeutic strategies aimed to MS treatment. Currently, two classes of synthetic PPARs agonists, the thiazolidinediones (PPAR- γ agonists) and fibrates (PPAR- α agonists) are used for the treatment of type 2 diabetes mellitus and for hyperlipidemia, respectively.

This review presents an overview of the function of PPARs, with a critical appraisal on the molecular and cellular events connected with their expression, function and pharmacological regulation in the context of MS.

Keywords: *Metabolic Syndrome, atherosclerosis, nuclear receptors, peroxisome proliferator-activated receptors, fibrates, thiazolidinediones.*

Sindrome metabolica

La SM è una malattia sistemica complessa, caratterizzata dall'associazione di più fattori di rischio metabolici che determinano un incremento dell'insorgenza di complicanze cardiovascolari su base aterosclerotica e di diabete mellito di tipo II (DMT2). Le alterazioni principali che la caratterizzano sono l'obesità di tipo "centrale", le alterazioni del metabolismo glicidico (insulino-resistenza, alterata glicemia a digiuno e alterata tolleranza glicidica), del metabolismo lipidico (elevati livelli di trigliceridi sierici e ridotti valori di colesterolo HDL, *high density lipoprotein*) e dei valori di pressione arteriosa, che si associano a uno stato infiammatorio cronico. La presenza nella SM di molteplici componenti e complicanze cliniche ha reso difficoltosa la formulazione di una definizione univoca e di criteri diagnostici universalmente riconosciuti (1, 2). La classificazione del *National Cholesterol Education Program* -

Third Adult Treatment Panel (NCEP-ATP III) rappresenta il modello classificativo più accurato in termini di sensibilità e specificità (1, 2) (Tabella 1).

Sebbene negli ultimi anni la SM sia stata oggetto di un crescente interesse, i meccanismi patogenetici che ne sono alla base rimangono ancora poco conosciuti, probabilmente a causa della eterogeneità delle sue espressioni fenotipiche, determinate dalla diversa combinazione dei criteri diagnostici. Tuttavia vi è un consenso generale nel ritenere che la SM sia malattia multifattoriale, in cui cause genetiche ed ambientali rivestono ugual peso nel determinare l'instaurarsi di uno stato di insulino-resistenza (IR) (3). L'IR è alla base delle alterazioni dell'omeostasi del metabolismo glicidico, come l'alterata tolleranza al glucosio e il DMT2, e si associa alle alterazioni del metabolismo lipidico, del tessuto adiposo viscerale e della pressione arteriosa, tutte condizioni descritte come caratteristiche della SM. La sua gestione clinica è attualmente messa in atto mediante la correzione degli stili di vita, come la riduzione dell'introito calorico e la promozione dell'attività fisica, e mediante l'utilizzo di terapie combinate, che spesso presentano significativi effetti collaterali. Sebbene tale approccio terapeutico migliori le singole

Indirizzo per la corrispondenza

Antonio Moschetta M.D. Ph.D.
Clinica Medica "Augusto Murri"
Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"
Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale
Policlinico di Bari
Piazza Giulio Cesare, 11 - 70124 Bari
E-mail: antonio.moschetta@gmail.com

Tabella 1 - Criteri per la diagnosi di Sindrome Metabolica (National Cholesterol Education Program - Third Adult Treatment Panel, NCEP-ATP III, 2001).

Fattori di rischio	Valori soglia (la diagnosi di Sindrome Metabolica viene posta in presenza di almeno tre dei seguenti cinque fattori di rischio)
Circonferenza addominale	≥102 cm (uomo)/≥88 cm (donna)
Trigliceridi	≥150 mg/dL (o in trattamento farmacologico)
Colesterolo HDL	<50 mg/dL (uomo)/<40 mg/dL (donna) (o in trattamento farmacologico)
Pressione Arteriosa	≥130/85 mmHg (o in trattamento farmacologico)
Glicemia a digiuno	≥100 mg/dL [‡] (o diagnosi di diabete o in trattamento farmacologico)

[‡]Nel 2004 il valore soglia per la definizione di alterata glicemia a digiuno è stato diminuito da 110 mg/dL (6.1 mmol/L) a 100 mg/dL (5.6 mmol/L), in accordo con la definizione aggiornata di alterata glicemia a digiuno dell'American Diabetes Association. Adattato da Grundy et al. "Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement" *Circulation* 2005.

componenti della SM, spesso non porta ad un controllo soddisfacente delle complicanze cardiovascolari. Pertanto appare evidente la necessità di sviluppare conoscenze più complete degli eventi patogenetici alla base della SM e di identificare nuove terapie che possano essere utilizzate con sempre maggiore efficacia e sicurezza.

Recettori nucleari

I recettori nucleari (NRs) sono fattori di trascrizione ligando-dipendenti coinvolti nella regolazione di geni associati alla proliferazione e al differenziamento cellulare, al metabolismo e allo sviluppo embrionale (4, 5). Un numero elevato di NRs, i cosiddetti “orfani”, non ha ligandi endogeni conosciuti, mentre altri NRs, i “veri orfani”, regolano la trascrizione indipendentemente dal legame con specifici ligandi.

I membri conosciuti della superfamiglia dei NRs sono circa 150, nell'uomo ne sono stati identificati 48 (5, 7). I NRs sono caratterizzati da una struttura modulare che comprende una regione N-terminale, definita funzione attivante 1 (AF-1), associata alla regolazione trascrizionale ligando-indipendente del NR; un dominio di legame al DNA altamente conservato (DBD), contenente due motivi “zinc-finger”, che presenta elevata affinità per le sequenze canoniche esameriche del DNA; una piccola regione, denominata *Hinge*, che facilita l'organizzazione funzionale tridimensionale di domini multipli; un dominio di legame al ligando (LBD), che caratterizza l'identità e la specificità dei singoli NRs; e una regione C-terminale, definita funzione attivante 2 (AF-2), associata a funzioni di transattivazione ligando-dipendenti e interazioni con i coregolatori (8) (Figura 1A). Il legame del NR al suo specifico ligando induce una modificazione conformazionale del recettore che ne determina la dissociazione dai corepressori, il reclutamento di coregolatori tessuto-specifici e l'avvio del processo trascrizionale (5, 9) (Figura 1B). Spesso la regolazione trascrizionale indotta da uno specifico complesso NR-ligando mostra specificità cellulare e sequenza di DNA-dipendente, cosicché lo stesso complesso può stimolare (o reprimere) la trascrizione genica solo in determinati tipi cellulari.

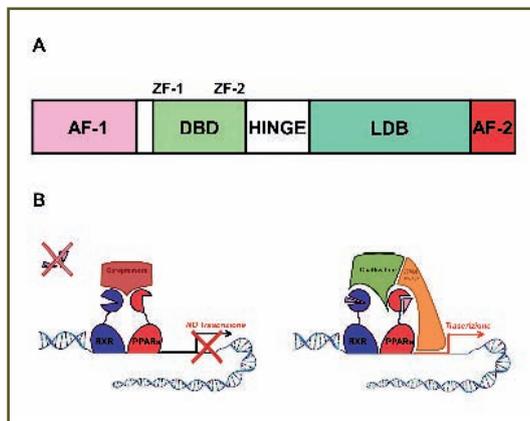


Figura 1 - (A) Rappresentazione schematica della struttura modulare dei recettori nucleari che comprende: una regione N-terminale (AF-1); un dominio di legame al DNA altamente conservato (DBD), contenente due motivi “zinc-finger” (ZF); una piccola regione, denominata *Hinge*; un dominio di legame al ligando (LBD); una regione C-terminale (AF-2). (B) Il legame del recettore nucleare al suo specifico ligando induce una modificazione conformazionale che determina una dissociazione dai corepressori, il reclutamento di coregolatori e l'avvio della trascrizione di specifici e coerenti programmi genetici.

Peroxisome proliferator-activated receptors

La distribuzione tissutale dei PPARs nei mammiferi è stata ampiamente studiata sia nei roditori sia nell'uomo (10, 11). I PPARs regolano l'espressione di numerosi geni coinvolti nel controllo del me-

tabolismo lipidico e glicidico, della spesa energetica, dei meccanismi di riparazione tissutale, della proliferazione e differenziazione cellulare, dell'infiammazione, della pressione arteriosa e dell'aterosclerosi (12, 15). L'attivazione dei PPARs da parte di ligandi endogeni (acidi grassi, eicosanoidi) o sintetici (fibrati e tiazolidinedioni, TZDs), porta alla formazione di eterodimeri con il recettore dell'acido 9-cis-retinoico (RXR). L'eterodimero PPAR-RXR si lega a specifiche sequenze di DNA (PPAR *response elements*, PPREs) in corrispondenza della regione del promotore dei geni target. L'attivazione dei PPARs porta al reclutamento di coattivatori e ad un rimodellamento della cromatina che promuove il processo trascrizionale (16, 17). Sono state clonate e caratterizzate tre distinte isoforme, PPAR α (NR1C1), PPAR β/δ (NR1C2) e PPAR γ (NR1C3). Le tre isoforme esibiscono un profilo di espressione e funzione isotipo-specifico (18).

PPAR α

PPAR α , primo membro della famiglia dei PPARs ad essere clonato nel 1990, rappresenta un regolatore chiave del metabolismo degli acidi grassi ed è espresso prevalentemente in quei tessuti che presentano un elevato catabolismo degli acidi grassi, quali il fegato, il cuore, il rene, il tessuto adiposo bruno e muscolare scheletrico. Nei roditori sono stati riscontrati alti livelli di PPAR α nel fegato, nel rene, nel cuore, nella mucosa dello stomaco, nel duodeno, nella retina, nel tessuto adiposo bruno e muscolare scheletrico. Nell'uomo PPAR α è espresso principalmente nel fegato, mentre si riscontrano livelli più bassi nel muscolo scheletrico e cardiaco, nel tessuto adiposo bruno, nel rene, nell'intestino, nelle cellule coinvolte nella risposta immunitaria (monociti, macrofagi e linfociti) e nelle cellule endoteliali

(12, 13, 15, 19, 20). Gli agonisti endogeni di PPAR α sono gli acidi grassi (soprattutto polinsaturi), gli eicosanoidi e altri derivati dell'acido arachidonico, mentre i ligandi sintetici sono i fibrati (clofibrato, fenofibrato, bezafibrato e gemfibrozil) e i farmaci anti-infiammatori non steroidei. I fibrati sono potenti agenti ipolipemizzanti che promuovono l'aumento del colesterolo HDL e la riduzione degli acidi grassi liberi, dei trigliceridi e del colesterolo LDL (*low density lipoprotein*). Studi condotti su modelli animali hanno inoltre suggerito un loro possibile impiego nel trattamento della steatosi epatica, basato sulla osservazione che l'attivazione di PPAR α aumenta l'espressione di geni coinvolti nel *turnover* degli acidi grassi e riduce la lipoperossidazione epatica, determinando un miglioramento del quadro istologico e della funzionalità epatica (21). Tali evidenze non sono state tuttavia confermate nell'uomo: nonostante i fibrati migliorino il profilo lipidico nei pazienti con steatosi epatica, non sembrerebbero influire significativamente sul grado della steatosi epatica e sulla funzionalità epatica (22). Oltre ad essere potenti agenti ipolipemizzanti i fibrati presentano effetti anti-infiammatori ed anti-trombotici, grazie alla loro capacità di promuovere la fibrinolisi e inibire la produzione di un potente vasocostrittore secreto dall'endotelio, l'endotelina-1 (ET-1), e delle molecole di adesione (*vascular cell adhesion molecule-1*, VCAM-1). Sebbene alcuni *trials* clinici abbiano evidenziato gli effetti benefici dei fibrati nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, in particolar modo nei pazienti affetti da dislipidemia (alti valori di trigliceridi, bassi valori di HDL), sovrappeso e DMT2, altri studi hanno invece dimostrato come il loro impiego non sia in grado di determinare un incremento del colesterolo HDL tale da avere un effetto anti-aterosclerotico suffi-

ciente ad inibire la formazione della placca aterosclerotica (23, 26). La spiegazione è da ricercare nel fatto che i fibrati attualmente in commercio sono degli agonisti deboli di PPAR α , pertanto è probabilmente necessario sviluppare nuove molecole, più potenti e selettive, che possano avere un maggior impatto sia sulla dislipidemia aterogena sia sul rischio cardiovascolare.

PPAR α e metabolismo

L'attivazione di PPAR α modula l'espressione di un'ampia gamma di geni coinvolti nel catabolismo degli acidi grassi e nel metabolismo lipoproteico in tutti quei tessuti deputati alla metabolizzazione degli acidi grassi, come il fegato, il cuore ed il muscolo scheletrico (Figura 2) (13, 15, 20). I geni target di PPAR α sono coinvolti nel trasporto e uptake lipidico (*cluster of differentiation 36*, CD36; carnitina-palmitoil-trasferasi 1, CPT1), nella β -ossidazione mitocondriale e perossisomiale e ω -ossidazione microsomiale degli acidi grassi (acil-CoA ossidasi, ACO; tiolasi; acil-CoA deidrogenasi, MCAD; citocromo P450- ω -idrossilasi) e nel metabolismo lipoproteico (lipoproteina lipasi, LPL; apo-

lipoproteina A-V, ApoAV; apolipoproteina C-III, ApoC-III) (13, 15, 20). L'attivazione di PPAR α da un lato promuove l'attività della LPL e dell'ApoAV, entrambe deputate all'idrolisi dei trigliceridi provenienti dalle *very low density lipoprotein* (VLDL) e alla produzione di acidi grassi e glicerolo disponibili per la β -ossidazione, e dall'altro inibisce la ApoC-III, che modula la captazione epatica delle lipoproteine ricche in trigliceridi.

Il risultato finale è un aumento della lipolisi, della clearance delle lipoproteine ricche in trigliceridi e della β -ossidazione, con conseguente riduzione della disponibilità di acidi grassi liberi per la sintesi di trigliceridi (14, 20, 27) (Figura 2). PPAR α è coinvolto inoltre nel mantenimento dell'omeostasi del metabolismo del colesterolo, regolando positivamente il suo trasporto inverso (28). La sua attivazione determina un aumento della trascrizione dei geni che codificano per le apolipoproteine epatiche A-1 e A-II (ApoA-I e ApoA-II), componenti fondamentali delle HDL, e per il trasportatore di membrana *ATP-binding cassette A1* (ABCA1), recettore delle HDL nei macrofagi, favorendo così l'efflusso di colesterolo dai macrofagi ed il suo assorbimento a livello epatico (Figura 2).

In aggiunta, l'attivazione di PPAR α riduce i livelli della proteina colesteril-ester-trasferasi (CEPT), responsabile del trasferimento degli esteri di colesterolo dalle HDL ad altre frazioni lipoproteiche, determinando in questo modo un aumento del colesterolo presente nelle LDL (14, 20, 29). Alterazioni a carico di queste *pathways* possono portare ad un accumulo di lipidi a livello epatico e muscolare e ad un aumento della produzione delle VLDL, tutti eventi fondamentali nell'insorgenza dell'IR, della SM e del DMT2.

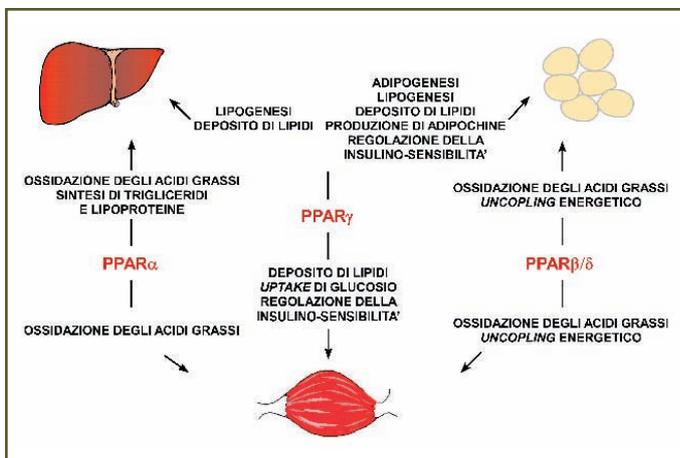


Figura 2 - Principali siti di azione dei PPARs. Le tre isoforme di PPAR regolano l'omeostasi glicidica e lipidica attraverso la loro azione coordinata a livello epatico, muscolare e del tessuto adiposo.

PPAR α , infiammazione e aterosclerosi

PPAR α è espresso in numerose cellule coinvolte nella regolazione della risposta infiammatoria e nella patogenesi del processo aterosclerotico, come le cellule endoteliali, i monociti/macrofagi, i linfociti e le cellule della muscolatura liscia vasale (VSMCs) (19). Ancora oggi esistono controversie sul suo ruolo a livello vascolare, essendo stati dimostrati sia effetti pro- che anti-aterogeni. La sua attivazione a livello endoteliale riduce l'espressione di molecole di adesione (VCAM-I; *intercellular adhesion molecule-I*, ICAM-I) e di segnali chemiotattici (*monocyte chemoattractant protein-1*, MCP-1), interferendo con il reclutamento di cellule infiammatorie e con la loro adesione sull'endotelio (19). Tali effetti sembrerebbero essere legati all'inibizione mediata da PPAR α di uno dei principali mediatori dell'infiammazione, il *nuclear factor kappa B* (NF-kB) (19). L'attivazione di PPAR α a livello endoteliale inibisce inoltre la sintesi e la secrezione di ET-1, potente vasocostrittore e induttore della proliferazione delle cellule muscolari lisce, attraverso la soppressione del fattore di trascrizione *activator protein 1* (AP-1) (19). In maniera simile alle cellule endoteliali, PPAR α è espresso in quantità apprezzabili nelle VSMCs dove svolge un ruolo anti-infiammatorio (19, 28). La sua attivazione in queste cellule è infatti in grado di ridurre la sintesi di mediatori pro-infiammatori, quali l'interleuchina-6 (Il-6) e la ciclossigenasi-2, e di aumentare l'espressione della emeossigenasi-1 (HO-1), enzima che agisce come modulatore negativo sia della risposta infiammatoria sia della proliferazione delle VSMCs (19). L'attivazione di PPAR α è inoltre in grado di inibire la sintesi dell'ossido nitrico sintetasi (NOS), della metalloproteinasi-9 (MMP-9), del *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) e del recettore del fattore attivante le piastrine nei monociti/macrofagi, e

dell'interferon- γ (IFN- γ) e del TNF- α nei linfociti T (30). Nonostante tali evidenze siano a favore del ruolo anti-infiammatorio di PPAR α a livello vascolare, altri studi hanno invece dimostrato come tali effetti possano dipendere dall'entità dell'infiammazione e della lesione vascolare; in presenza di infiammazione l'attivazione di PPAR α rallenterebbe la progressione della lesione aterosclerotica (31).

PPAR β/δ

PPAR β/δ ha una distribuzione pressoché ubiquitaria nei tessuti dei mammiferi, con livelli elevati nel fegato, nei reni, nel muscolo scheletrico e cardiaco, nel tessuto adiposo, nell'encefalo, nel colon, nei polmoni e nei vasi (12, 19, 20, 32). I ligandi naturali di PPAR β/δ sono gli acidi grassi polinsaturi (l'acido eicosapentaenoico, l'acido arachidonico), le prostaglandine A1, E2 e D2 e la prostaciclina (PGI) (20). Le funzioni fisiologiche di PPAR β/δ sono molto meno studiate e, a differenza di PPAR α e PPAR γ , gli agonisti sintetici di PPAR β/δ sono ancora in una fase di studio sperimentale.

PPAR β/δ e metabolismo

Recenti studi funzionali suggeriscono che PPAR β/δ è uno dei regolatori chiave dell'infiammazione, del metabolismo lipidico, lipoproteico e glicidico in molti tessuti, compreso il tessuto adiposo, muscolare scheletrico e cardiaco (*Figura 2*). PPAR β/δ è espresso sia nel tessuto adiposo bruno che nel bianco, dove controlla la termogenesi, il trasporto e l'ossidazione degli acidi grassi attraverso l'attivazione dei suoi geni target, come MCAD, CPT1, ACO, acil-CoA sintetasi (ACS) e *uncoupling protein-1* (UCP-1) (30, 33). Recentemente è stato dimostrato il legame diretto tra PPAR β/δ e obesità. In differenti modelli animali di obesità (modelli genetici

e nutrizionali), l'attivazione selettiva di PPAR β/δ nel tessuto adiposo porta ad una marcata riduzione del tessuto adiposo e ad un miglioramento del profilo lipidico, principalmente grazie all'attivazione dell'ossidazione degli acidi grassi e della spesa energetica (33) (*Figura 2*). Effetti simili sull'ossidazione degli acidi grassi sono stati osservati nel muscolo cardiaco, dove si associano ad un aumento della contrattilità muscolare, e nel muscolo scheletrico, dove si associano ad un aumento del numero di fibre muscolari di tipo I, della resistenza muscolare e al miglioramento dell'insulino-sensibilità (34, 35) (*Figura 2*). Gli effetti di PPAR β/δ sull'ossidazione degli acidi grassi osservati nel muscolo e nel tessuto adiposo sono stati riscontrati anche a livello epatico. Nel fegato, in modelli animali di steatoepatite (dieta priva di metionina e colina), l'attivazione di PPAR β/δ (agonista GW501516) riduce l'accumulo di lipidi mediante l'attivazione di geni coinvolti nell'ossidazione degli acidi grassi, e l'infiammazione mediante riduzione dell'espressione del *transforming growth factor- β 1* (TGF- β 1), del TNF- α , della *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) e dell'interleuchina-1 β (IL-1 β) (36).

Recenti studi hanno inoltre dimostrato gli effetti benefici di PPAR β/δ sul metabolismo lipidico e lipoproteico. Il trattamento per quattro settimane di scimmie *rhesus* obese ed insulino-resistenti con GW501516 ha portato ad un significativo miglioramento del profilo lipidico plasmatico, determinando un incremento del 79% dei livelli di colesterolo HDL, dei livelli di ApoA-I e ApoA-II ed una riduzione significativa dei livelli plasmatici di colesterolo LDL, dei trigliceridi e dell'insulina (37). Allo stesso modo, topi obesi e non obesi trattati con agonisti di PPAR β/δ hanno mostrato un incremento dei livelli di colesterolo HDL. Inoltre, il trattamento con

GW501516 attenua l'aumento di peso, l'IR e l'accumulo intracellulare di trigliceridi nel muscolo scheletrico, nel fegato e nel tessuto adiposo (30). Questi effetti sembrano essere il risultato dell'aumentata espressione di geni che promuovono il catabolismo lipidico, l'attività mitocondriale e la β -ossidazione degli acidi grassi a livello muscolare (38). PPAR β/δ sembra inoltre essere coinvolto nella regolazione del trasporto inverso del colesterolo mediante l'induzione dell'espressione di ABCA1. Il trattamento con un agonista di PPAR β/δ , GW610742, ha infatti mostrato un aumento dei livelli di colesterolo HDL di circa il 50%, associata ad un aumento dell'espressione di ABCA1 (39). In aggiunta, l'attivazione di PPAR β/δ mediante GW610742, determina una riduzione dell'assorbimento intestinale di colesterolo mediante riduzione dell'espressione della proteina intestinale *Niemann-Pick C1 like 1 protein* (NPC1L1) (39).

PPAR β/δ , infiammazione e aterosclerosi

Oltre agli effetti sul metabolismo lipidico, PPAR β/δ riveste un ruolo chiave nella regolazione dell'infiammazione e del processo aterosclerotico. PPAR β/δ è espresso nella parete vascolare ed in particolar modo nelle cellule endoteliali, nei monociti/macrofagi e nelle VSMCs (19). Studi condotti *in vitro* ed *in vivo* hanno mostrato che alcuni ligandi di PPAR β/δ , come GW0742 e GW501516, possiedono potenti effetti anti-infiammatori, in quanto inibiscono l'espressione di molecole di adesione da parte delle cellule endoteliali e quindi il reclutamento di leucociti (19). Il meccanismo alla base di tali effetti anti-infiammatori sarebbe da ricercare nella riduzione dello stress ossidativo, nell'aumentata produzione di enzimi anti-ossidanti e nella attivazione della *B cell lymphoma-6* (BCL-6), una proteina che

funziona da soppressore dell'infiammazione (40).

Nello stato non legato BCL-6 è parte del complesso trascrizionale PPAR β/δ -RXR α e determina un incremento dei livelli di agenti pro-infiammatori, come MCP-1, -3 e dell'IL-1 β . Dopo attivazione da parte del ligando, i corepressori, compreso BCL-6, sono rilasciati e ha inizio la trascrizione dei geni target anti-infiammatori di PPAR β/δ (41). Oltre a queste azioni anti-infiammatorie sulle cellule endoteliali, l'attivazione di PPAR β/δ determina una stimolazione diretta della proliferazione delle VSMCs e dell'angiogenesi (19). PPAR β/δ è espresso nelle VSMCs, e la sua espressione in queste cellule è indotta in risposta al fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF), potente stimolatore neointimale, attraverso l'attivazione della *pathway* del fosfatidil-inositolo-3-chinasi/proteina chinasi B (PI3K/Akt) (19). L'espressione di PPAR β/δ è inoltre stimolata *in vivo* durante la formazione di lesioni vascolari (19).

Questi risultati correlano bene con la dimostrazione che un incremento dell'espressione di PPAR β/δ nelle VSMCs determina un aumento dell'infiammazione, della proliferazione cellulare e quindi del processo aterosclerotico (19). Di contro, agonisti selettivi di PPAR β/δ attenuano il processo aterosclerotico riducendo l'infiammazione e sopprimendo la proliferazione delle VSMCs sia in condizioni basali che in risposta al TNF- α (19). I ligandi di PPAR β/δ inibiscono la proliferazione delle VSMCs attraverso l'induzione di TGF- β 1 e l'inibizione della produzione di MCP-1 e dell'IL-1 β (42).

PPAR γ

PPAR γ è espresso soprattutto nel tessuto adiposo, dove gioca un ruolo fondamentale nella regolazione della differen-

ziamento degli adipociti, dell'*uptake* e del deposito di acidi grassi, del metabolismo glicidico e dell'infiammazione (Figura 2). PPAR γ è codificato da tre diverse isoforme di mRNA: PPAR γ 1, PPAR γ 2 e PPAR γ 3 che sono generate attraverso meccanismi alternativi di *splicing*. Rispetto agli altri PPARs, PPAR γ ha un ristretto profilo di espressione: sono stati riscontrati livelli molto alti nel tessuto adiposo bianco e bruno, nel muscolo scheletrico e nel colon (20, 43). L'espressione va comunque differenziata a seconda delle diverse isoforme: PPAR γ 1 è espresso nella maggior parte nel tessuto adiposo bruno e bianco ed è inoltre presente nel muscolo scheletrico, nel fegato, nelle β -cellule pancreatiche, nel cuore, colon, placenta, encefalo, e nelle cellule vascolari, immunitarie e infiammatorie. In condizioni fisiologiche normali, l'espressione dell'isoforma PPAR γ 2 è limitata al tessuto adiposo bianco e bruno, mentre la sua espressione ectopica nel fegato e nel muscolo scheletrico è indotta in risposta all'eccessivo introito calorico o all'obesità genetica. PPAR γ 3 è espresso nei macrofagi, nel tessuto adiposo e nell'intestino (12).

Gli agonisti endogeni di PPAR γ sono gli acidi grassi mono- e polinsaturi, alcuni eicosanoidi (l'acido 13-idrossioctadecanoico, 13-HODE, e l'acido 9-idrossioctadecanoico, 9-HODE) e i prostanoidi. PPAR γ è inoltre un target terapeutico dei TZDs (rosiglitazone, pioglitazone) e parzialmente degli anti-infiammatori non steroidei, come l'indometacina e l'ibuprofene (20). I TZDs trovano indicazione nella pratica clinica per il trattamento del DMT2 grazie alla loro capacità di ristabilire l'insulinosensibilità mediante effetti diretti sul metabolismo lipidico a livello del tessuto adiposo ed effetti secondari sul metabolismo lipidico e glicidico a livello del muscolo scheletrico e del fegato (44). I TZDs pro-

muovono la differenziazione adipocitaria, l'*uptake* degli acidi grassi e il deposito lipidico nel tessuto adiposo sottocutaneo, determinando una riduzione degli acidi grassi liberi e quindi dell'IR. Inoltre l'attivazione di PPAR γ incrementa l'espressione e la traslocazione sulla superficie cellulare del *glucose transporter type 1 e type 4* (GLUT-1 e -4), e quindi l'*uptake* di glucosio a livello epatico e muscolare scheletrico, determinando una riduzione dei livelli di glucosio plasmatici (45).

Inoltre, gli agonisti di PPAR γ ristabiliscono l'insulino-sensibilità e contrastano l'infiammazione mediante una riduzione del TNF α e un aumento della produzione di adiponectina (46). I TZDs sono stati studiati anche nel trattamento di pazienti con steatosi epatica con risultati non sempre univoci e che pertanto necessitano di ulteriori conferme (47, 48).

Sebbene il pioglitazone ed il rosiglitazone siano efficaci nel trattamento del DMT2, allo stesso tempo presentano alcuni effetti collaterali, tra cui l'incremento ponderale, l'edema, la cefalea, l'insufficienza cardiaca, l'ipoglicemia, le mialgie ed un aumento del rischio di fratture (13).

Tra gli effetti collaterali particolare attenzione deve essere posta al possibile aumento del rischio di infarto miocardico e della mortalità cardiovascolare. I TZDs agiscono sull'insulino-resistenza, fattore di rischio cardiovascolare, pertanto si presumeva che potessero ridurre l'incidenza. Un'ampia metanalisi pubblicata da *Nissen SE* nel 2007 ha invece evidenziato un'associazione tra rosiglitazone ed aumento del rischio di infarto miocardico e della mortalità cardiovascolare (49).

In seguito, ulteriori studi hanno fornito evidenze discordanti, non confermando né escludendo tale rischio. La disponibilità di dati non conclusivi sul rischio di ischemia miocardica ha fatto sì che il rosiglitazone non venisse ritirato dal mercato, ma che fosse inserita una nota relativa al possibile rischio di ischemia miocardica nel foglietto illustrativo, soprattutto in pazienti cardiopatici in trattamento con nitrati e in quelli in cui il rosiglitazone è stato aggiunto alla terapia insulinica.

zone non venisse ritirato dal mercato, ma che fosse inserita una nota relativa al possibile rischio di ischemia miocardica nel foglietto illustrativo, soprattutto in pazienti cardiopatici in trattamento con nitrati e in quelli in cui il rosiglitazone è stato aggiunto alla terapia insulinica.

PPAR γ e metabolismo

Studi sui meccanismi fisiopatologici condotti *in vitro* e *in vivo* hanno permesso di definire le azioni metaboliche di PPAR γ nella regolazione dell'adipogenesi, del metabolismo lipidico e glicidico, dell'insulino-sensibilità e della risposta infiammatoria.

Nel tessuto adiposo, PPAR γ modula il differenziamento degli adipociti e stimola l'assorbimento e accumulo dei lipidi circolanti, con conseguente riduzione dei livelli circolanti degli acidi grassi liberi e degli effetti deleteri del carico lipidico sul segnale insulinico (20) (*Figura 2*).

La sua attivazione negli adipociti stimola un'ampia gamma di geni coinvolti nel differenziamento adipocitario e nell'*uptake* di acidi grassi e nel loro deposito, tra cui la LPL, la *fatty acid binding protein 4* (FABP-4), la ACS, la perilipina, la CD36, e la fosfoenolpiruvato carbossichinasi (PEPCK) (20). Il risultato dell'attivazione di PPAR γ , e della conseguente redistribuzione dei lipidi, è un aumento del tessuto adiposo sottocutaneo rispetto a quello viscerale ed un aumento di peso (*Figura 2*).

Numerosi studi hanno inoltre dimostrato che PPAR γ è in grado di ridurre l'infiltrazione macrofagica nel tessuto adiposo contribuendo a ridurre l'infiammazione cronica che accompagna l'obesità. L'attivazione di PPAR γ porta infatti a una riduzione dell'espressione di alcuni *markers* infiammatori, come la disintegrina A, la *metalloproteinase domain-containing protein 8* (ADAM8) e il *cluster of differentiation 68*

(CD68) a livello del tessuto adiposo (13). L'azione anti-infiammatoria di PPAR γ è dovuta ad una inibizione di NF-kB, ad una riduzione della produzione di adipochine e ad un aumento della produzione di adiponectina; tali effetti influenzano il metabolismo del glucosio a livello epatico e muscolare e l'insulino-sensibilità sistemica (50) (*Figura 2*).

L'adiponectina promuove l'ossidazione degli acidi grassi e migliora l'insulino-sensibilità attraverso la stimolazione della protein-chinasi attivata da AMP (AMPK) nel muscolo scheletrico e attraverso l'inibizione di PEPCK nel fegato (13).

Infine, PPAR γ ha anche la capacità di influenzare la morfologia adipocitaria promuovendo la formazione di adipociti di piccole dimensioni che producono una quantità inferiore di *markers* infiammatori.

PPAR γ , infiammazione e aterosclerosi

PPAR γ è espresso nei globuli bianchi e nei macrofagi differenziati e ha un ruolo chiave nel processo aterosclerotico. Inizialmente si riteneva che l'attivazione di PPAR γ potesse avere degli effetti pro-aterogeni attraverso la stimolazione dell'attività del trasportatore degli acidi grassi CD36 che determina un aumento dell'*uptake* e del deposito dei lipidi ossidati nei macrofagi.

Questo processo porta, infatti, alla formazione delle cellule schiumose, evento critico nella formazione della placca aterosclerotica. Studi successivi hanno invece dimostrato che PPAR γ ha proprietà anti-aterosclerotiche. Tale effetto sembra sia legato all'aumentata espressione di ABCA1 nei macrofagi, e quindi all'aumento dell'efflusso di colesterolo dai macrofagi alle HDL nascenti ed alla riduzione della sintesi di geni infiammatori a livello macrofagico, incluso MCP-1, VCAM-1, ICAM-1, IFN- γ e il TNF- α (13).

Nuovi approcci terapeutici

I PPARs controllano l'espressione di geni coinvolti nel controllo del metabolismo glicidico, lipidico e del colesterolo, ed ogni alterazione a carico di queste *pathways* può condurre all'obesità, alla SM, al DMT2 ed alle complicanze cardiovascolari.

Tutte e tre le isoforme di PPARs rappresentano pertanto degli interessanti target farmacologici e molte compagnie farmaceutiche stanno impiegando notevoli sforzi volti a sviluppare ligandi più efficaci dei PPARs rispetto a quelli disponibili. Ad esempio sono stati identificati nuovi agonisti parziali ed antagonisti con lo scopo di combinare l'effetto antidiabetico con quello sull'obesità.

Un nuovo antagonista di PPAR γ ha dimostrato di prevenire l'insorgenza di IR, migliorare il profilo lipidico e ridurre l'adiposità in topi *ob/ob* sottoposti a dieta iperlipidica. Paradossalmente, rispetto ai TZDs che stimolano l'adipogenesi e quindi l'incremento ponderale, gli antagonisti di PPAR γ proteggono sia dall'IR che dall'obesità.

Di contro, le nuove generazioni di agonisti doppi (PPAR α/γ -agonisti), i cosiddetti "*glitazars*", e di pan-agonisti (PPAR $\alpha/\beta\delta/\gamma$ -agonisti), che combinano gli effetti terapeutici dei PPARs in modo da coprire l'intero spettro delle componenti della SM, non hanno ancora portato a risultati soddisfacenti in termini di sicurezza (13). Il fallimento degli agonisti doppi e dei pan-agonisti ha portato allo sviluppo di nuove strategie terapeutiche, nello specifico a ligandi selettivi (*selective PPAR modulator*, SPPARM), che agiscono sia come agonisti sia come antagonisti a seconda del contesto cellulare e dei geni target (13). Al momento gli SPPARM sono ancora in fase preclinica.

Conclusioni e prospettive future

Obesità e SM, dirette conseguenze dell'eccessivo apporto calorico e dello stile di vita sedentario, sono associate ad un aumento del rischio cardiovascolare. La prevalenza di queste condizioni cliniche è in rapido aumento e di conseguenza è atteso un picco di incidenza del DMT2 e degli eventi cardiovascolari. Il trattamento farmacologico attualmente disponibile per il trattamento della SM non è in grado controllarne adeguatamente le manifestazioni: per tale motivo è necessario sviluppare nuovi farmaci che possano essere utilizzati nella gestione delle diverse componenti della SM e delle complicanze cardiovascolari ad essa associate. I PPARs sono elementi chiave nella regolazione dei processi metabolici e infiammatori, e sono attualmente considerati i target ideali per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche.

I PPARs sono infatti attivi in diversi apparati (fegato, muscolo, tessuto adiposo, cellule infiammatorie, endotelio), dove presiedono alla regolazione del metabolismo e degli eventi connessi alle patologie vascolari. Ad oggi, nel trattamento del DMT2 e nella dislipidemia, vengono uti-

lizzate due classi di agonisti sintetici dei PPARs, rispettivamente i TZDs e i fibrati. Questi farmaci agiscono solo su singole componenti della SM, presentano significativi effetti collaterali (in particolare i TZDs) e sono scarsamente efficaci nella prevenzione degli eventi cardiovascolari. Gli agonisti farmacologici dei PPAR β/δ , così come i pan-agonisti dei PPARs, si sono dimostrati molto promettenti nei test scientifici e potranno ottimizzare l'efficacia dell'attivazione simultanea di diversi target appartenenti alla stessa famiglia.

Le nuove strategie sperimentali in corso di elaborazione e la possibilità di testare gli agonisti dei PPARs in diversi modelli traslazionali aiuteranno a delineare meglio il ruolo fisiologico e le funzioni molecolari dei PPARs, al fine di identificare nuove strategie terapeutiche che possano rivelarsi più efficaci nel trattamento della SM e nella prevenzione degli eventi cardiovascolari. Lo studio di modelli di efficacia terapeutica, attraverso l'utilizzo di metodiche sperimentali in cellule circolanti, porterà nel prossimo futuro alla identificazione di terapie di successo individualizzate per il singolo paziente metabolico in grado di rispondere in maniera ottimale all'attivazione di diversi PPARs.

Glossario

9-HODE: Acido 9-idrossioctadecanoico, acido grasso derivante dall'ossidazione non enzimatica dell'acido linoleico.

13-HODE: Acido 13-idrossioctadecanoico, acido grasso derivante dall'ossidazione non enzimatica dell'acido linoleico.

ABCA1: ATP-binding cassette A1, trasportatore ABC presente nella membrana plasmatica; funziona facilitando l'efflusso di fosfolipidi e colesterolo dallo strato esterno della membrana plasmatica, a un accettore extracellulare.

ACO: Acil-CoA ossidasi, enzima coinvolto nella β -ossidazione degli acidi grassi.

ACS: Acil-CoA sintetasi, enzima coinvolto nella β -ossidazione degli acidi grassi.

ADAM8: Metalloproteinase domain-containing protein 8, disintegrina implicata nelle interazioni tra cellule e tra cellule e matrice.

Akt: Proteina chinasi B, proteina coinvolta nel metabolismo glicidico, nella proliferazione e migrazione cellulare.

AMPK: Proteina chinasi attivata da AMP

BCL-6: B cell lymphoma-6, corepressore dei NRs, coinvolto nella regolazione dell'infiammazione.

CD36: Cluster of differentiation 36, trasportatore degli acidi grassi a catena lunga.

CEPT: Colesteril-ester-trasferasi, enzima che regola il trasferimento degli esteri di colesterolo dalle HDL alle lipoproteine contenenti l'apolipoproteina B (apoB), comprese le LDL.

CPT1: Carnitina-palmitoil-trasferasi 1, enzima che media il trasporto degli acidi grassi a catena lunga.

ET-1: Endotelina-1, proteina vasocostrittrice e ipertensiva.

FABP-4: Fatty acid binding protein 4, proteina trasportatrice degli acidi grassi. **GLUT1:** Glucose transporter type 1, proteina trasportatrice di glucosio che favorisce il passaggio di glucosio dai compartimenti extracellulari all'interno delle cellule.

GLUT4: Glucose transporter type 4, proteina trasportatrice di glucosio che favorisce il passaggio di glucosio dai compartimenti extracellulari all'interno delle cellule.

ICAM-1: Intercellular adhesion molecule-1, proteina che funziona come molecola responsabile dell'adesione cellulare.

IL-1 β : Interleuchina-1 β , citochina coinvolta nell'infiammazione e nella risposta immunitaria.

IL-6: Interleuchina-6, citochina coinvolta nell'infiammazione e nella risposta immunitaria.

INF- γ : Interferon- γ , citochina coinvolta nella risposta immunitaria innata e adattativa.

LPL: Lipoprotein lipasi, enzima che idrolizza i trigliceridi provenienti dalle lipoproteine VLDL e produce acidi grassi e glicerolo.

MCAD: Acil-CoA deidrogenasi, enzima coinvolto nella β -ossidazione degli acidi grassi.

MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1, proteina coinvolta nel reclutamento dei monociti.

MMP-9: Metallopeptidasi-9, enzima coinvolto nei processi infiammatori.

NF- κ B: Nuclear factor kappa B, proteina coinvolta nella regolazione della risposta immunitaria.

NPC1L1: Niemann-Pick C1 like 1 protein, trasportatore che media l'assorbimento di colesterolo.

PDGF: Fattore di crescita derivato dalle piastrine, citochina con capacità chemiotattica e proliferativa.

PEPCK: Fosfoenolpiruvato carbossichinasi, enzima coinvolto nella gluconeogenesi.

PI3K: Fosfatidil-inositolo-3-chinasi, enzima coinvolto nella crescita cellulare, nella proliferazione, nella differenziazione e sopravvivenza intracellulare.

TGF- β 1: Transforming growth factor- β 1, citochina coinvolta nella risposta immunitaria e nel tumore.

TNF- α : Tumor necrosis factor- α , citochina che stimola la reazione della fase acuta, coinvolta nell'infiammazione sistemica.

UCP-1: Uncoupling protein-1, proteina della membrana mitocondriale interna responsabile della produzione di calore.

VCAM-1: Vascular cell adhesion molecule-1, proteina che funziona come molecola responsabile dell'adesione cellulare.

RIASSUNTO

La Sindrome Metabolica (SM) è una malattia sistemica complessa, caratterizzata dall'associazione di più fattori di rischio metabolici che determinano un incremento del rischio di insorgenza di complicanze cardiovascolari. La presenza nella SM di molteplici componenti ne ha reso difficile la comprensione della patogenesi e la gestione clinico-terapeutica. L'utilizzo di terapie combinate sebbene migliori dei singoli componenti della SM presenta una scarsa efficacia nella prevenzione degli eventi cardiovascolari. Appare evidente la necessità di sviluppare conoscenze più dettagliate degli eventi alla base della SM e di identificare nuove terapie. I recettori nucleari, fattori di trascrizione ligando-dipendenti, coinvolti nella regolazione della risposta cellulare a stimoli di natura metabolica, ormonale e nutrizionale, rappresentano dei potenziali target terapeutici per il trattamento e la prevenzione della dislipidemia aterogena e della resistenza insulinica. Tra questi, i "sensori degli acidi grassi", i *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPARs), regolano l'espressione di numerosi geni coinvolti nel controllo della glicemia, del metabolismo lipidico e dell'infiammazione. Queste caratteristiche rendono i PPARs un target ideale per lo sviluppo di nuovi farmaci nel trattamento della SM e per la comprensione degli eventi molecolari e cellulari alla base della omeostasi metabolica e delle sue alterazioni. Attualmente vengono utilizzati due classi di agonisti sintetici dei PPARs: i tiazolidinedioni (agonisti di PPAR- γ) nel trattamento del diabete mellito di tipo 2, e i fibrati (agonisti di PPAR- α) nella dislipidemia. La presente rassegna focalizza l'attenzione sulle funzioni dei PPARs, con particolare attenzione agli eventi cellulari e molecolari connessi con la sua espressione, funzione e regolazione nell'ambito della SM.

Parole chiave: Sindrome Metabolica, aterosclerosi, recettori nucleari, *peroxisome proliferator-activated receptors*, fibrati, tiazolidinedioni.

Bibliografia

1. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA* 2001; 285 (19): 2486-24897.
2. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120 (16): 1640-1645.
3. Eckel RH, Alberti KG, Grundy SM, et al. The metabolic syndrome. *Lancet* 2010; 375 (9710): 181-183.
4. Bookout A, Jeong Y, Downes M, et al. Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network. *Cell* 2006; 126 (4): 789-799.
5. Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 1995; 83 (6): 835-839.
6. Chawla A, Repa JJ, Evans RM, et al. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science* 2001; 294 (5548): 1866-1870.
7. Mangelsdorf DJ, Evans RM. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell* 1995; 83 (6): 841-850.
8. Lanz RB, McKenna NJ, Onate SA, et al. A steroid receptor coactivator, SRA, functions as an RNA and is present in an SRC-1 complex. *Cell* 1999; 97 (1): 17-27.
9. McKenna NJ, O'Malley BW. Nuclear receptors, coregulators, ligands, and selective receptor modulators: making sense of the patchwork quilt. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 949: 3-5.
10. Braissant O, Fufelle F, Scotto C, et al. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology* 1996; 137 (1): 354-366.
11. Kliewer SA, Forman BM, Blumberg B, et al. Differential expression and activation of

- a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91 (15): 7355-7359.
12. Wahli W, Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. *Trends Endocrinol Metab* 2012; 23 (7): 351-363.
 13. Azhar S. Peroxisome proliferator-activated receptors, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Future Cardiol* 2010; 6 (5): 657-691.
 14. Duval C, Muller M, Kersten S. PPARalpha and dyslipidemia. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771 (8): 961-971.
 15. Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, et al. Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest* 2006; 116 (3): 571-580.
 16. Gurevich I, Flores AM, Aneskievich BJ. Corepressors of agonist-bound nuclear receptors. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 223 (3): 288-298.
 17. Yu S, Reddy JK. Transcription coactivators for peroxisome proliferator-activated receptors. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771 (8): 936-951.
 18. Wang YX. PPARs: diverse regulators in energy metabolism and metabolic diseases. *Cell Res* 2010; 20 (2): 124-137.
 19. Hamblin M, Chang L, Fan Y, et al. PPARs and the cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal* 2009; 11 (6): 1415-1452.
 20. Vacca M, Degirolamo C, Mariani-Costantini R, et al. Lipid-sensing nuclear receptors in the pathophysiology and treatment of the metabolic syndrome. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2011; 3 (5): 562-587.
 21. Harano Y, Yasui K, Toyama T, et al. Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist, reduces hepatic steatosis and lipid peroxidation in fatty liver Shionogi mice with hereditary fatty liver. *Liver Int* 2006; 26 (5): 613-620.
 22. Athyros VG, Mikhailidis DP, Didangelos TP, et al. Effect of multifactorial treatment on non-alcoholic fatty liver disease in metabolic syndrome: a randomised study. *Curr Med Res Opin* 2006; 22 (5): 873-883.
 24. de FU, Ericsson CG, Grip L, et al. Secondary preventive potential of lipid-lowering drugs. The Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial (BECAIT). *Eur Heart J* 1996; 17 (Suppl. F): 37-42.
 25. Elkeles RS, Diamond JR, Poulter C, et al. Cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. A double-blind placebo-controlled study of bezafibrate: the St. Mary's, Ealing, Northwick Park Diabetes Cardiovascular Disease Prevention (SEND CAP) Study. *Diabetes Care* 1998; 21 (4): 641-648.
 26. Frick MH, Elo O, Haapa K, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1987; 317 (20): 1237-1245.
 27. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341 (6): 410-418.
 28. Gervois P, Torra IP, Fruchart JC, et al. Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38 (1): 3-11.
 29. Marx N, Duez H, Fruchart JC, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res* 2004; 94 (9): 1168-1178.
 30. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, et al. PPAR-alpha and PPAR-gamma activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med* 2001; 7 (1): 53-58.
 31. Kang K, Hatano B, Lee CH. PPAR delta agonists and metabolic diseases. *Curr Atheroscler Rep* 2007; 9 (1): 72-77.
 32. Lee H, Shi W, Tontonoz P, et al. Role for peroxisome proliferator-activated receptor alpha in oxidized phospholipid-induced synthesis of monocyte chemotactic protein-1 and interleukin-8 by endothelial cells. *Circ Res* 2000; 87 (6): 516-521.
 33. Kilgore KS, Billin AN. PPARbeta/delta ligands as modulators of the inflammatory response. *Curr Opin Investig Drugs* 2008; 9 (5): 463-469.

34. Wang YX, Lee CH, Tjep S, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell* 2003; 113 (2): 159-170.
35. Cheng L, Ding G, Qin Q, et al. Cardiomyocyte-restricted peroxisome proliferator-activated receptor-delta deletion perturbs myocardial fatty acid oxidation and leads to cardiomyopathy. *Nat Med* 2004; 10 (11): 1245-1250.
36. Wang YX, Zhang CL, Yu RT, et al. Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPARdelta. *PLoS Biol* 2004; 2 (10): e294.
37. Nagasawa T, Inada Y, Nakano S, et al. Effects of bezafibrate, PPAR pan-agonist, and GW501516, PPARdelta agonist, on development of steatohepatitis in mice fed a methionine- and choline-deficient diet. *Eur J Pharmacol* 2006; 536 (1-2): 182-191.
38. Oliver WR, Jr., Shenk JL, Snaith MR, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 (9): 5306-5011.
39. Ehrenborg E, Krook A. Regulation of skeletal muscle physiology and metabolism by peroxisome proliferator-activated receptor delta. *Pharmacol Rev* 2009; 61 (3): 373-93.
40. van der Veen JN, Kruit JK, Havinga R, et al. Reduced cholesterol absorption upon PPARdelta activation coincides with decreased intestinal expression of NPC1L1. *J Lipid Res* 2005; 46 (3): 526-534.
41. Fan Y, Wang Y, Tang Z, et al. Suppression of pro-inflammatory adhesion molecules by PPAR-delta in human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28 (2): 315-321.
42. Barish GD, Atkins AR, Downes M, et al. PPARdelta regulates multiple proinflammatory pathways to suppress atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105 (11): 4271-4276.
43. Kim HJ, Ham SA, Kim SU, et al. Transforming growth factor-beta1 is a molecular target for the peroxisome proliferator-activated receptor delta. *Circ Res* 2008; 102 (2): 193-200.
44. Vidal-Puig A, Jimenez-Linan M, Lowell BB, et al. Regulation of PPAR gamma gene expression by nutrition and obesity in rodents. *J Clin Invest* 1996; 97 (11): 2553-2561.
45. Way JM, Harrington WW, Brown KK, et al. Comprehensive messenger ribonucleic acid profiling reveals that peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation has coordinate effects on gene expression in multiple insulin-sensitive tissues. *Endocrinology* 2001; 142 (3): 1269-1277.
46. Kramer D, Shapiro R, Adler A, et al. Insulin-sensitizing effect of rosiglitazone (BRL-49653) by regulation of glucose transporters in muscle and fat of Zucker rats. *Metabolism* 2001; 50 (11): 1294-1300.
47. Cabrero A, Laguna JC, Vazquez M. Peroxisome proliferator-activated receptors and the control of inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002; 1 (3): 243-248.
48. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, et al. PPAR-alpha and PPAR-gamma activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med* 2001; 7 (1): 53-8.
49. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362 (18): 1675-1685.
50. Nissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007; 356 (24): 2457-2471.
51. Ricote M, Li AC, Willson TM, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998; 391 (6662): 79-82.