

# Modulación del PPAR $\alpha$ por agentes farmacológicos y naturales y sus implicaciones metabólicas

María Isabel Panadero, María del Carmen González, Emilio Herrera y Carlos Bocos

Facultades de Farmacia y Medicina. Universidad San Pablo-CEU. Boadilla del Monte. Madrid. España.

---

El receptor activado por proliferadores peroxisómicos tipo alfa (PPAR $\alpha$ ) une ácidos grasos, eicosanoides o fibratos, y regula la transcripción de genes relacionados tanto con el metabolismo lipídico y glucídico como con la inflamación. Los fibratos son ligandos de PPAR $\alpha$  que se utilizan para normalizar diversos parámetros lipídicos y glucídicos y que ejercen efectos antiinflamatorios. De hecho, se ha demostrado que los fibratos producen mejoras en los pacientes con síndrome metabólico, diabetes mellitus de tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Este artículo revisa el mecanismo de acción y los papeles funcionales de los fibratos, enfatizando los factores que modulan su capacidad para activar PPAR $\alpha$  y que por tanto pueden afectar su efectividad. Estos factores podrían explicar los resultados obtenidos en experimentos con animales y en estudios clínicos con fibratos en los que se encontraron efectos adversos y/o una ineficiente acción hipolipemiente tras la activación del PPAR $\alpha$ . Por lo tanto, todos esos resultados han subrayado la necesidad de buscar otros fármacos o agentes nutricionales que modulen el PPAR $\alpha$ . Esta estrategia podría ser complementaria o bien

reemplazar al tratamiento clásico. Así, revisamos brevemente los nuevos ligandos naturales y sintéticos del PPAR $\alpha$  que se están desarrollando actualmente y que son más específicos, selectivos, con más potencia y que, en principio, presentan mayor efectividad y menos efectos adversos que los fibratos.

*Palabras clave:*

Receptor activado por proliferadores peroxisómicos tipo alfa (PPAR $\alpha$ ). Fibratos. Tratamiento farmacológico. Soluciones nutricionales.

---

## PPAR $\alpha$ MODULATION BY PHARMACOLOGICAL AND NATURAL AGENTS AND METABOLIC IMPLICATIONS

Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ ) binds fatty acids, eicosanoids, or fibrates, and regulates transcription of genes involved both in lipid and glucose metabolism as well as in inflammation. Fibrates are PPAR $\alpha$  ligands used to normalize lipid and glucose parameters and exert anti-inflammatory effects. In fact, fibrates have already been demonstrated to benefit metabolic syndrome, type 2 diabetes and cardiovascular diseases. This article reviews the mechanism of action and the functional roles of fibrates, emphasising the factors modulating their capacity to activate PPAR $\alpha$  and affecting their effectiveness. These factors would possibly explain the findings obtained in animal studies and clinical trials with fibrates which showed either untoward effects and/or inefficient hypolipidemic action of PPAR $\alpha$  activation. Therefore, all those findings have underlined the need to search for pharmacological or nutritional solutions based on modulation of PPAR $\alpha$ . This strategy could either be

---

Este estudio ha sido financiado por el Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+i), del Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación (PI060352) así como por la Fundación Universitaria San Pablo-CEU (USP-PC 16/07).

Correspondencia: Dr. C. Bocos.  
Facultad de Farmacia. Universidad San Pablo-CEU.  
Urbanización Montepríncipe. 28668 Boadilla del Monte.  
Madrid. España.  
Corre electrónico: carbocos@ceu.es

Recibido el 11-2-2008 y aceptado el 11-3-2008.

complementary to or replace the classical therapy. Thus, a brief survey of the natural and synthetic agonists of PPAR $\alpha$ , more specific, selective, with higher potency and, supposedly, displaying greater effectiveness and fewer adverse effects than fibrates which are currently being developed, is also mentioned.

*Key words:*

Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ ).  
Fibrates. Pharmacological therapy. Nutritional solutions.

### Introducción y aspectos generales del PPAR $\alpha$

Los receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR) pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares de hormonas, junto con los receptores de hormona tiroidea, retinoides, hormonas esteroideas y de vitamina D<sup>1</sup>. Los PPAR son factores de transcripción dependientes de ligando que regulan diversos aspectos de la homeostasia energética, metabolismo lipídico y lipoproteico, homeostasia glucídica, metabolismo de aminoácidos y de la síntesis de urea. Este hecho indica que los PPAR pueden funcionar como una molécula clave implicada en diversas alteraciones metabólicas. Es por ello que hay un interés cada vez mayor en la búsqueda de soluciones terapéuticas que utilicen como diana los PPAR, tanto en forma de agentes nutricionales como farmacológicos. En los últimos años, los PPAR han cobrado también importancia como reguladores de la inflamación y la respuesta inmunitaria, y han abierto una nueva área de desarrollo de agentes terapéuticos que se emplean en el tratamiento de enfermedades que cursan con inflamación crónica, como aterosclerosis, resistencia insulínica inducida por la obesidad y enfermedades neurodegenerativas.

En este trabajo, se revisa el mecanismo de activación del PPAR $\alpha$ , y se analizan algunos casos en los cuales los agonistas del PPAR $\alpha$  no han obtenido la efectividad deseada o bien han provocado efectos adversos. También se discute el empleo de nuevos fármacos o nutrientes que pudieran prevenir o aliviar los efectos inesperados producidos por agonistas del PPAR $\alpha$ , que hemos revisado recientemente<sup>2</sup>.

### Características estructurales

En 1990, los PPAR se identificaron como receptores para los fibratos, un tipo de fármacos hipolipemiantes empleados en humanos desde finales de los años sesenta<sup>3</sup>. Debido a su capacidad de inducir la proliferación de peroxisomas en roedores recibieron el nombre de PPAR<sup>4</sup>.

Los PPAR son proteínas de 49-56 kDa, con una estructura modular que consta de 6 dominios funcionales, definidos como A/B, C, D y E/F. El dominio aminoterminal A/B contiene una función de transactivación independiente de ligando (AF-1)<sup>5</sup>. El dominio C o dominio de unión al ácido desoxirribonucleico (ADN) (DBD) se encuentra estabilizado por 2 átomos de cinc unidos cada uno a 4 residuos de cisteína. Este dominio DBD está involucrado en la heterodimerización con el receptor X del ácido 9-cis retinoico (RXR) (NR2B), y forma un complejo que es capaz de unirse al elemento respuesta a proliferadores peroxisómicos (PPRE), que se localiza en el promotor de los genes diana del PPAR<sup>6</sup>. El dominio D o dominio bisagra une el dominio DBD y el dominio de unión al ligando (LBD), lo que permite doblar o alterar conformacionalmente la proteína. El dominio D permite el acoplamiento de cofactores, está involucrado en la localización nuclear del receptor y contiene un sitio de fosforilación para quinasas<sup>7</sup>. Finalmente, el dominio E/F o LBD, localizado en el carboxilo terminal, contiene un bolsillo hidrofóbico que presenta 2 diferencias respecto a otros receptores nucleares: una enorme cavidad de unión al ligando y una hélice  $\alpha$  adicional en la parte inferior del bolsillo que participa en la entrada de los ligandos<sup>8</sup>. Estas características pueden contribuir a la capacidad de los PPAR de unirse a un amplio rango de compuestos lipofílicos, tanto sintéticos como naturales. El dominio E/F también contiene una función de transactivación dependiente de ligando (AF-2) y presenta una serie de regiones que permiten la interacción con RXR, cofactores y proteínas de choque térmico<sup>9</sup>.

### Isotipos, distribución tisular y ligandos

Se han identificado 3 isoformas: PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\beta$  (llamado también  $\delta$ , NR1C2), y PPAR $\gamma$  (NR1C3)<sup>10</sup>, que presentan distinta distribución tisular, lo que refleja sus diferentes funciones biológicas. Los patrones de expresión no difieren significativamente entre machos y hembras<sup>11</sup>. La expresión del PPAR $\alpha$  es más elevada en tejidos con un activo catabolismo de los ácidos grasos, como el hígado, el riñón, el corazón, el músculo esquelético y el duodeno<sup>11</sup>. Además, los PPAR se expresan en diferentes tipos de células vasculares e inmunitarias, como monocitos/macrófagos, células endoteliales (EC), células de la musculatura lisa vascular (VSMC), linfocitos y células dendríticas.

A pesar de una estructura general común del LBD, la unión de algunos ligandos a PPAR $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  muestra especificidad tanto de especie, como de

isotipo. Los PPAR se activan mediante compuestos naturales y sintéticos.

#### *Ligandos naturales*

La identificación de los ácidos grasos insaturados como ligandos del PPAR prueba, al menos en parte, la firme evidencia de que la actividad transcripcional dependiente de PPAR de los ácidos grasos es el resultado de una interacción directa con este receptor nuclear. En general, todas las isoformas de PPAR presentan una selectividad mayor por los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA) omega 3 ( $\omega$ -3) y  $\omega$ -6 que por los ácidos grasos saturados o monoinsaturados<sup>12</sup>. Estos ácidos grasos se unen a las 3 isoformas, aunque presentan más afinidad por el PPAR $\alpha$ . Los ácidos grasos saturados son ligandos débiles del PPAR, mientras que los ácidos grasos ramificados y los derivados de isoprenoides se unen de forma eficaz al PPAR $\alpha$ <sup>12</sup>. De acuerdo con esto, compuestos relacionados con procesos inflamatorios, como eicosanoides derivados del ácido araquidónico vía lipooxigenasa<sup>12</sup>, leucotrienos (LT) y ácidos grasos oxidados, son también ligandos naturales del PPAR $\alpha$ <sup>13</sup>.

#### *Ligandos sintéticos*

Los PPAR son también activados por proliferadores peroxisómicos, una clase amplia de compuestos estructuralmente diversos que incluyen fármacos hipolipemiantes, agentes plastificantes, herbicidas y solventes. Estos agentes hipolipemiantes son del tipo fibratos, como clofibrato, fenofibrato, bezafibrato, gemfibrocilo y un compuesto experimental, Wy-14,643. Los fibratos se unen preferencialmente al PPAR $\alpha$ <sup>4</sup>, mientras que las tiazolidinedionas (TZD), una clase de fármacos antidiabéticos, se unen selectivamente al PPAR $\gamma$ <sup>14</sup>. Entre los compuestos sintéticos que se unen al PPAR $\alpha$  se incluyen al 5,8,11,14 ácido eicosatetraínoico (ETYA), un análogo del ácido araquidónico<sup>15</sup>, y agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), que también parecen activar al PPAR $\gamma$ <sup>16</sup>. También parece ser que agonistas del RXR, como el ligando natural ácido 9-cis retinoico, puede inducir la formación del heterodímero PPAR:RXR y activar genes diana del PPAR<sup>17</sup>.

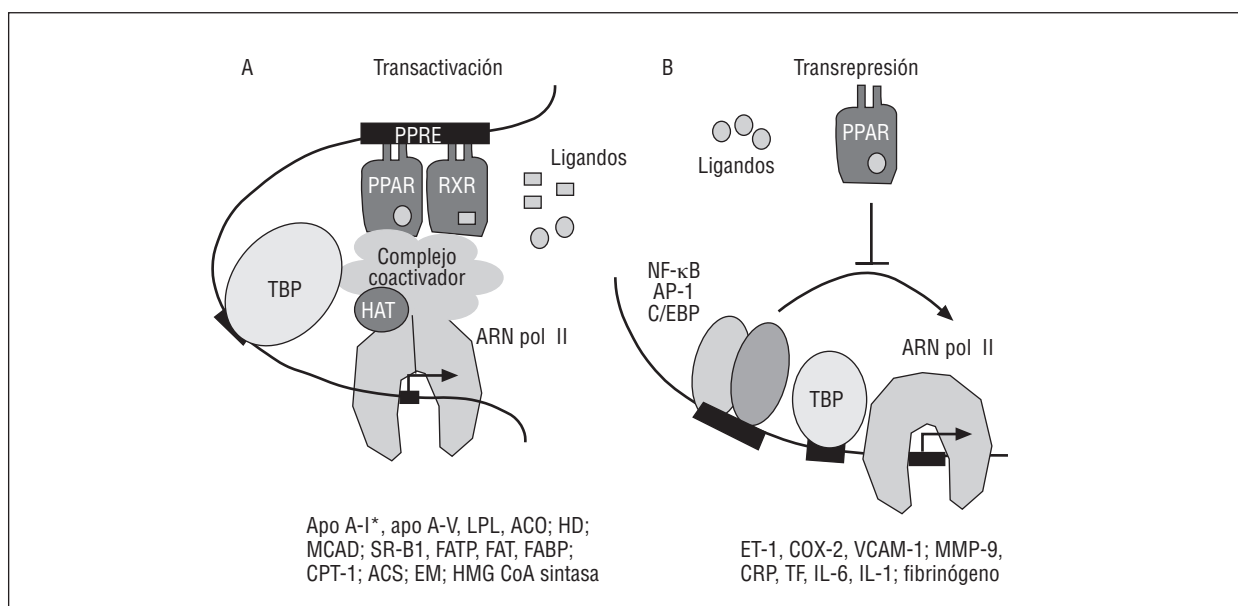
#### **Mecanismo de acción**

Las actividades biológicas y terapéuticas del PPAR son el resultado de la combinación de 2 mecanismos de actuación diferentes (fig. 1): *a*) una transactivación dependiente de ligando encargado de controlar los efectos metabólicos, y *b*) una transrepresión dependiente de ligando, que contro-

la los efectos vasculares. Otros mecanismos importantes en la activación del PPAR son: su contenido celular, la naturaleza de los ligandos, la señal cruzada con otros receptores nucleares y la estructura del PPRE. Además, otros mecanismos de control a tener en cuenta son las modificaciones postraduccionales que puede presentar el PPAR, como fosforilación, sumoilación y ubiquitinación, entre otros<sup>18,19</sup>.

#### *Activación transcripcional*

La función típica del PPAR es la activación dependiente de ligando de la transcripción, después de haberse unido directamente al ADN a través del elemento respuesta del promotor o intensificador (*enhancer*) de los genes diana. La regulación transcripcional de los PPAR requiere la heterodimerización con el RXR, el cual pertenece a la misma superfamilia de receptores. El complejo PPAR:RXR, activado por ligando, modula la transcripción mediante la unión a una secuencia específica del ADN, denominada PPRE (fig. 1A). Este elemento respuesta está compuesto generalmente por una secuencia hexanucleotídica (AGGTCA) que se repite de manera directa con una separación entre las 2 copias de tan sólo 1 nucleótido. De ahí que se denomine DR-1. No obstante, la capacidad de los receptores nucleares de iniciar o suprimir el proceso de transcripción depende de su interacción con cofactores negativos o positivos. Estos cofactores sirven como puente entre los factores de transcripción y la maquinaria transcripcional básica (fig. 1A) y, lo más importante, estos cofactores contienen ciertas actividades enzimáticas que controlan la expresión de los genes mediante la modificación específica de la estructura del ADN y de la cromatina. La acetilación de histonas es uno de estos mecanismos críticos que regulan la expresión de genes. Por regla general, un aumento en los valores de acetilación de histonas relaja el empaquetamiento de la cromatina, lo que se relaciona con una activación transcripcional mayor, mientras que una disminución en la actividad de histona acetilasa se asocia con una represión transcripcional<sup>20</sup>. De acuerdo con esto, la proteína de unión al CREB (proteína de unión al elemento respuesta de AMP cíclico) o CBP y la p300 son coactivadores<sup>21</sup> que presentan actividad histona acetilasa<sup>22</sup>, mientras que los 2 correpresores, mediador de silenciamiento para receptores de retinoides y hormona tiroidea (SMRT, del inglés *silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor*), y el correpresor del receptor nuclear (NCoR), contienen actividad desacetiladora de histonas<sup>23</sup>. Así, en ausencia de ligando, los heterodí-



**Figura 1.** Mecanismos de señalización del receptor activado por proliferadores peroxisómicos tipo alfa (PPAR $\alpha$ ). A. Transactivación: el PPAR $\alpha$  regula la transcripción de sus genes diana por heterodimerización con el receptor X del ácido 9-cis retinoico (RXR). El heterodímero PPAR $\alpha$ /RXR se une al elemento respuesta a proliferadores peroxisómicos (PPRE) localizado en el promotor de sus genes diana. El heterodímero PPAR $\alpha$ /RXR, una vez activado por el ligando, se asocia con cofactores que presentan actividad acetiltransferasa de histonas (HAT), lo que modifica la estructura del nucleosoma, posibilita el contacto con los factores de transcripción generales y permite la transcripción del gen. Se citan algunos genes diana del PPAR $\alpha$ , implicados en el metabolismo lipídico. B. Transrepresión: el PPAR $\alpha$  puede reprimir la transcripción de genes a través de mecanismos diversos (ver el texto) que son independientes de su unión al ácido desoxirribonucleico. Esta represión puede deberse a la interferencia del PPAR $\alpha$  en la actividad de otros factores de transcripción, implicados en la modulación de la expresión de genes generalmente relacionados con inflamación. ACO: acil-CoA oxidasa; AP-1: activador de la proteína 1; Apo: apolipoproteína; ARN pol II: ácido ribonucleico polimerasa tipo II; C/EBP: proteína de unión al intensificador/CCAAT; COX-2: ciclooxigenasa 2; CPT-1: carnitina palmitoil transferasa 1; EM: enzima mállica; ET-1: endotelina 1; FABP: proteína de unión a los ácidos grasos; FAT: transportador de ácidos grasos; FATP: proteína transportadora de ácidos grasos; HD: hidratasa deshidrogenasa; IL: interleucina; LPL: lipoproteína lipasa; MCAD: acil-CoA deshidrogenasa de cadena media; MMP-9: metaloproteínasa de la matriz 9; NF- $\kappa$ B: factor nuclear-kappa B; PCR: proteína C reactiva; SR-B1: receptor *scavenger* de tipo B1; TBP: proteína de unión a la caja TATA (*TATA binding protein*); TF: factor tisular; VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular 1.

\*Presentan un efecto diferente en humanos y roedores.

meros PPAR:RXR se asocian con correpresores, como NCoR y SMRT<sup>24</sup>. El estado desacetilado de histonas inhibe la transcripción<sup>25</sup>. Por el contrario, la unión al ligando induce cambios conformacionales en el dominio de transactivación (AF-2) del LBD del PPAR, lo que provoca la liberación de los correpresores y la selección de coactivadores<sup>26</sup>. Numerosos coactivadores, como el PBP (proteína de unión al PPAR), PRIP/RAP250 (proteína de interacción con PPAR), PGC-1 (coactivador 1 del PPAR gamma) o el coactivador del receptor esteroideo 1 (SRC-1), son capaces de interactuar con PPAR in vitro. La interacción de receptores nucleares con estos coactivadores genera la unión del heterodímero al PPRE en el promotor, la modificación de la estructura de la cromatina y la activación o supresión de la transcripción del gen diana. Este modelo implica que la cromatina tiene que ser lo suficientemente

flexible para permitir la formación de un bucle (fig. 1A).

#### Represión génica

El PPAR también puede regular negativamente, de manera dependiente del ligando, la expresión de genes, mediante la inhibición de la actividad de otros factores de transcripción, como los miembros de las familias del factor nuclear-kappa B (NF- $\kappa$ B) y del activador de la proteína 1 (AP-1)<sup>27,28</sup>, el transductor de señal y activador de la transcripción (STAT), la proteína de unión al intensificador/CCAAT (C/EBP)<sup>18</sup> y el factor nuclear hepático 4 alfa (HNF4 $\alpha$ ), entre otros<sup>29</sup>. En este mecanismo no es necesaria la unión del receptor al elemento respuesta específico en la molécula de ADN (fig. 1B). Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de estudios realizados, los mecanismos por los cua-

les los PPAR inhiben estas rutas de transducción de señales no están completamente entendidos. Recientemente, Ricote et al<sup>30</sup> han revisado los mecanismos moleculares que pueden explicar la transrepresión específica de genes mediada por ligandos del PPAR. Entre ellos se encuentran las interacciones directas proteína:proteína entre el PPAR y otros factores de transcripción, la modulación de la actividad cinasa, la competición por los coactivadores y el modelo dependiente del correpresor. Más aún, uno de estos modelos de transrepresión establece que el PPAR $\alpha$  regula positivamente la expresión del represor del NF- $\kappa$ B llamado inhibidor de kappa B (I $\kappa$ B)<sup>31</sup>, que actúa como secuestrador de subunidades del NF- $\kappa$ B, impidiendo tanto su translocación al núcleo como, consecuentemente, su capacidad de unión al ADN<sup>32</sup>. Por lo tanto, el PPAR $\alpha$  puede inhibir genes inducidos por NF- $\kappa$ B. Por otro lado, la interferencia del PPAR $\alpha$  con la señal del C/EBP y del HNF4 $\alpha$  podría explicarse porque el PPAR $\alpha$  es capaz de disminuir la expresión del HNF4 $\alpha$ <sup>33</sup>, así como la del propio C/EBP<sup>34</sup> (fig. 1B).

### Mecanismos que controlan la actividad del PPAR $\alpha$

Dado que el presente artículo está enfocado principalmente al PPAR $\alpha$ , vamos a analizar el mecanismo de acción exclusivamente de este subtipo.

#### *Contenido celular relativo del PPAR $\alpha$*

En cuanto a la expresión del PPAR $\alpha$ , algunos estudios muestran una regulación de esta expresión por glucocorticoides<sup>35</sup>, hormona de crecimiento<sup>36</sup>, insulina o, incluso, por ácidos grasos y fibratos<sup>37,38</sup>. Así pues, se ha descrito que los valores de ácido ribonucleico (ARN) mensajero (ARNm) y proteína de PPAR $\alpha$  discurren en paralelo con el ritmo circadiano de los valores circulantes de glucocorticoides. A su vez, situaciones de estrés o ayuno que producen un aumento en los valores plasmáticos de glucocorticoides también provocan un incremento en la síntesis de PPAR $\alpha$ <sup>35</sup>. Por el contrario, la hormona de crecimiento parece que disminuye los valores de ARNm del PPAR $\alpha$ <sup>36</sup>. Por otro lado, hay resultados contradictorios sobre la regulación de la expresión del PPAR $\alpha$  por la insulina<sup>39,40</sup>, aunque parece cierto que el efecto inhibitorio de la insulina sólo se observa cuando la expresión del PPAR $\alpha$  está aumentada. Este efecto contrarregulador de la insulina se ha observado tanto in vitro por Steineger et al<sup>40</sup>, como in vivo por nosotros<sup>37</sup>. Nuestros estudios in vivo con ratas han mostrado que durante el desarrollo perinatal, los valores de ARNm y proteína PPAR $\alpha$  varían marcadamente, y presentan

un máximo durante el período de lactancia, seguido de un pronunciado descenso cuando las ratas se hacen adultas<sup>41</sup>. Esta diferencia está claramente relacionada con la ingestión de leche, rica en lípidos, y con la insulinemia baja que concurren durante el período de lactancia<sup>37</sup>. De hecho, se pudo comprobar que una sobrecarga oral de grasa era capaz de incrementar de forma acusada la expresión hepática de PPAR $\alpha$ , a menos que los valores plasmáticos de insulina fueran elevados<sup>37</sup>. Por último, un aumento en la expresión del gen del PPAR $\alpha$  mediada por sus propios ligandos, fibratos y ácidos grasos libres (FFA), sugeriría una autorregulación de este receptor nuclear. Esta situación se ha observado tanto en células de rata<sup>39,42</sup>, como en estudios in vivo en hígado de rata<sup>38</sup>, y se ha confirmado en ratones carentes de PPAR $\alpha$ <sup>33</sup>.

Es interesante señalar que los valores de expresión del PPAR $\alpha$  determinan su respuesta a los agonistas. Duez et al<sup>43</sup>, utilizando ratones transgénicos PPAR $\alpha$ +/- con apolipoproteína (apo) A-I humana, demostraron que los fibratos son menos efectivos en la reducción de los lípidos plasmáticos y en la modulación de los valores de ARNm de los genes diana si se comparaban con ratones PPAR $\alpha$ +/+ con apo A-I humana. Estos hallazgos muestran que el PPAR $\alpha$  influye en la respuesta a los fibratos de una manera dependiente de la dosis de gen del propio receptor que esté presente<sup>43</sup>. Ello concuerda con la hipótesis de Holden y Tugwood<sup>44</sup>, los cuales propusieron que los valores de expresión del PPAR $\alpha$  pueden mediar diferentes respuestas a los agonistas del PPAR $\alpha$  en la expresión de los genes. De este modo, mientras que valores altos de PPAR $\alpha$  podrían modular tanto la expresión de genes involucrados en la homeostasia lipídica como la de genes relacionados con la proliferación peroxisómica, cantidades bajas del PPAR $\alpha$  podrían actuar sólo en la regulación de los primeros<sup>44</sup>. Una explicación así podría justificar la sensibilidad diferente encontrada por nosotros en la expresión de genes de la proliferación peroxisómica (el propio PPAR $\alpha$  y acil-CoA oxidasa [ACO]) y de genes de la homeostasia lipídica y glucídica (fosfoenolpiruvato carboxiquinasa [PEPCK] y lipoproteína lipasa [LPL]) tras cambios nutricionales, en el hígado de ratas lactantes (que presentan valores altos de PPAR $\alpha$ ) y en ratas adultas (que presentan valores bajos de PPAR $\alpha$ )<sup>45</sup>. De forma similar, permitiría explicar por qué, en humanos, sólo se inducen tras la exposición a ligandos del PPAR $\alpha$  los genes relacionados con la hipolipidemia y, por el contrario, en roedores, se activan tanto los genes asociados con el metabolismo lipídico como los genes relacionados con

la proliferación peroxisomal<sup>46</sup>. De hecho, se ha indicado que los menores valores de expresión del PPAR $\alpha$  detectados en el hígado humano, en comparación con los del hígado de ratón, podrían ser la causa de la falta de respuesta de los humanos a la proliferación peroxisomal<sup>47</sup>. Así pues, en roedores, los agonistas del PPAR $\alpha$  inducen mucho más la  $\beta$ -oxidación peroxisómica que la ruta mitocondrial, y por el contrario en humanos, la  $\beta$ -oxidación mitocondrial es fuertemente inducida, mientras que la ruta peroxisómica no es afectada. Relacionado con todo esto, se ha observado que el tratamiento crónico con proliferadores peroxisómicos provoca hepatocarcinoma en roedores, mientras que los estudios epidemiológicos no han mostrado este efecto en pacientes tratados con fibratos<sup>46</sup>. Aún más, los activadores de PPAR $\alpha$  pueden inducir proliferación peroxisómica también en el corazón del ratón, lo que podría incrementar el estrés oxidativo<sup>48</sup>, resultando ser cardiotoxico<sup>49</sup>, y provocando hipertrofia y fallo cardíacos<sup>50</sup>. No obstante, hasta ahora no se ha encontrado que en humanos el tratamiento con fibratos predisponga a una insuficiencia cardíaca crónica.

Otro mecanismo potencial que podría producir cambios a largo plazo en la expresión de genes es una metilación alterada del ADN. La metilación en la posición 5' de residuos de citosina es una modificación común en el genoma de los mamíferos y se asocia con la represión transcripcional, mientras que la hipometilación se encuentra asociada con una actividad transcripcional elevada<sup>51</sup>. Es interesante resaltar que estas alteraciones en el fenotipo provocan mecanismos moleculares denominados epigenéticos, que implican cambios estables en la expresión génica, lo que ha provocado un interés creciente en su estudio. Es más, se ha visto que diversas alteraciones que ocurren durante la vida materna pueden provocar una programación fetal que refleje una susceptibilidad aumentada a presentar enfermedades posnatales y que afectan a la impronta genómica<sup>52</sup>. Por ejemplo, se ha visto que la restricción proteica en la dieta de la madre durante la gestación en ratas altera la expresión del PPAR y de sus genes diana, y se ha relacionado con una homeostasia lipídica peor en la descendencia. Una menor metilación del promotor del PPAR $\alpha$  se ha asociado con una expresión mayor del propio ARNm<sup>51</sup>. Además, recientemente se ha observado que la exposición a agonistas del PPAR $\alpha$  también produce efectos epigenéticos en el hígado de ratón y que son dependientes de la presencia del PPAR $\alpha$ <sup>53</sup>.

El contenido nuclear del PPAR $\alpha$  podría ser también determinante en su capacidad de regulación

de la expresión de genes. La forma libre (no unida a ligando) del PPAR $\alpha$  se encuentra generalmente presente en el citosol y forma un complejo con chaperonas citoplasmáticas. De hecho, se ha observado que los PPAR son capaces de unirse a proteínas de choque térmico (hsp, del inglés *heat-shock proteins*) tanto a la de 72-kDa<sup>54</sup> como a la hsp90<sup>9</sup>. Tras su unión a un agonista, el complejo se disocia y el PPAR $\alpha$  migra al núcleo<sup>55</sup>.

Finalmente, los valores de receptor nuclear pueden controlarse también por la degradación y la estabilidad de la proteína. Recientemente, se ha demostrado que numerosos receptores nucleares se degradan por la vía de la ubiquitina-proteosoma. Las proteínas degradadas por esta vía se modifican covalentemente por fijación de un polipéptido, llamado ubiquitina, en residuos de lisina. La proteína del PPAR $\alpha$  está generalmente ubiquitinada y sus ligandos son capaces de disminuir la ubiquitinación del receptor nuclear, o, lo que es lo mismo, un mecanismo de estabilización de la proteína dependiente de ligando<sup>56</sup>. Además, la interacción del PPAR $\alpha$  con RXR $\alpha$  o CBP conduce a una reducción en la vida media de la proteína. Por el contrario, la interacción con NCoR, el cual inhibe su actividad transcripcional, conlleva una estabilización de la proteína<sup>57</sup>.

#### *Naturaleza del ligando*

El dominio LBD del PPAR $\alpha$  presenta una gran cavidad que permite acomodar muchos tipos diferentes de ligandos naturales y sintéticos<sup>48</sup>.

Una amplia variedad de ácidos grasos saturados e insaturados puede unirse al PPAR $\alpha$ , aunque con una baja afinidad. No obstante, los cambios inducidos por la dieta en los valores plasmáticos de ácidos grasos insaturados pueden llegar a ser suficientes para modificar ligeramente la actividad del PPAR<sup>18</sup>. Debido a la cantidad relativamente alta de posibles ligandos endógenos que están presentes en la célula, es difícil establecer qué molécula es el verdadero ligando endógeno fisiológico del PPAR $\alpha$ <sup>48</sup>. Por tanto, una estrategia alternativa ha sido evaluar rutas enzimáticas que pudieran generar ligandos de manera local. De este modo, se ha demostrado que la LPL libera ácidos grasos desde las lipoproteínas ricas en triglicéridos, que son capaces de activar al PPAR $\alpha$ <sup>58,59</sup>. Sin embargo, al utilizar otras lipasas que eran igual de eficaces en generar FFA, no se conseguía activar al PPAR $\alpha$ , lo que indica diferencias en la localización intracelular de esos ácidos grasos o bien una regulación selectiva del receptor<sup>58,60</sup>. En este mismo sentido, parece ser que los ácidos grasos sintetizados de novo son ca-

paces de regular la actividad del PPAR $\alpha$ , mientras que los ácidos grasos liberados desde el adipocito resultan inactivos. Una posibilidad es que las proteínas de unión a los lípidos seleccionen los ácidos grasos que van a ser transportados hasta el PPAR $\alpha$ <sup>61</sup>. Se ha indicado un posible papel de la proteína de unión a los ácidos grasos (FABP) y de otras proteínas transportadoras citoplasmáticas, para guiar a los ligandos hasta los receptores nucleares y, así, mediar en la interacción del PPAR con sus agonistas<sup>62-64</sup>. De hecho, recientemente se ha confirmado un papel así para el ácido retinoico, sus proteínas de unión y sus receptores nucleares<sup>65</sup>.

De manera similar a lo observado para los ligandos naturales, los fibratos que son ligandos de afinidad baja para el PPAR $\alpha$  deben usarse generalmente a dosis altas para alcanzar una actividad hipolipemiente eficaz<sup>66</sup>. Además, los fibratos parecen actuar preferencialmente en el hígado, mientras que otros ligandos de más afinidad, como Wy-14,643 y GW7647, actúan de manera más eficaz en tejidos extrahepáticos<sup>48,60</sup>, indicando que hay una especificidad tisular en la activación del PPAR $\alpha$ <sup>67</sup>. Para hacerlo más complejo, no se pueden descartar diferencias interespecie en la activación del PPAR $\alpha$  por sus ligandos. Así, por ejemplo, los fibratos son más efectivos que el ácido linoleico en activar al PPAR $\alpha$  en células en cultivo de hepatoma de rata, mientras que el linoleico es más efectivo que los fibratos en células de hepatoma humano<sup>68</sup>.

Es interesante señalar que se ha comprobado que los ácidos grasos de cadena larga pueden competir o desplazar a los proliferadores peroxisómicos en su unión a FABP<sup>62</sup>, lo cual dependerá de la concentración intracelular relativa de los 2 tipos de agonistas de PPAR $\alpha$ . Así pues, en experimentos libres de células, se ha observado que los ácidos grasos liberados en la hidrólisis catalizada por la LPL de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) son capaces de desplazar a potentes ligandos sintéticos de unirse a la proteína PPAR $\alpha$ <sup>58</sup>. De acuerdo con todo esto, en nuestros estudios realizados con ratas tratadas con fenofibrato al final de la gestación, podría estar ocurriendo una posible competición entre el fibrato y los FFA, cuyos valores en plasma se sabe que son elevados en esta etapa de la gestación, de manera que ambos agonistas estarían regulando la expresión de los mismos genes, pero también de genes diferentes, lo que provocaría respuestas biológicas tanto específicas como comunes<sup>38,69</sup>. Esto también ocurriría en el caso de animales que han recibido una dieta grasa junto con fibratos<sup>67</sup>. Se ha indicado que cada uno de estos ligandos del PPAR $\alpha$  podría tener una afinidad

de unión distinta, con un tiempo de residencia en el receptor diferente, y con una forma de interacción con la cavidad de unión desigual. Por ello, los FFA podrían disminuir la accesibilidad de los fibratos a su correspondiente sitio de unión al PPAR, reducir sustancialmente la capacidad de los fibratos de activar al PPAR $\alpha$  y, consecuentemente, sus efectos metabólicos. Es más, se ha indicado que la modulación de la expresión de diversos genes diana por fibratos y por ácidos grasos a menudo está desconectada. De hecho, estas y otras respuestas diferentes indicarían que no todos los efectos provocados por los ácidos grasos se deben achacar a la activación del PPAR<sup>70</sup>.

#### *Reacción hormonal cruzada con otros receptores nucleares*

Los elementos DR-1 presentes en el PPRE son también reconocidos por otros receptores nucleares, como RAR:RXR, homodímeros de RXR, HNF-4 y factor de transcripción de la ovoalbúmina de pollo (COUP-TF). De hecho, los homodímeros, tanto de HNF-4 como de COUP-TF, pueden desplazar al PPAR:RXR de su sitio de unión y competir con la señal del PPAR<sup>71,72</sup>. La eficacia de estas interacciones depende de la secuencia del elemento regulador y del contexto del promotor, lo que indica una reacción cruzada con otros receptores nucleares que podría generar acciones de tipo agonista o antagonista e influir en el control metabólico<sup>48,73</sup>. Por otra parte, el RXR es la pareja indispensable en la dimerización del PPAR y de otros receptores nucleares, como RAR, receptor de la hormona tiroidea (TR), receptor de la vitamina D (VDR), entre otros. Además, como se mencionó anteriormente, hay múltiples tipos de cofactores (coactivadores y/o correpresores) que los diferentes receptores nucleares seleccionan, incluidos los PPAR, con la finalidad de ensamblar la maquinaria transcripcional al promotor del gen diana correspondiente<sup>30</sup>. Por tanto, hay una competición clara entre los diversos receptores nucleares. Las diferencias tanto en la expresión de estos factores y cofactores, como en la interacción de una o varias de estas proteínas tras la adición de los ligandos, podrían modular la capacidad del PPAR $\alpha$  para regular la expresión de los genes diana. Esto podría explicar las diferencias encontradas en la respuesta a agonistas entre especies o entre diversos tipos de células<sup>55,74</sup>. No obstante, ratones carentes de PPAR $\alpha$ , que expresan en sus hígados PPAR $\alpha$  humano, responden funcionalmente a Wy-14,643 y a fenofibrato de manera similar a ratones que sí expresan PPAR $\alpha$  (*wild-type*), controlando la expresión de genes diana co-

nocidos<sup>75</sup>. Sin embargo, los ratones que expresan PPAR $\alpha$  humano no muestran proliferación peroxisómica ni hepatocarcinoma, a diferencia de lo que se observa en ratones que presentan PPAR $\alpha$  de ratón, a pesar de que los valores de expresión del PPAR $\alpha$  sean similares en los 2 tipos de ratones<sup>75</sup>. Bien es verdad que el PPAR $\alpha$  humano y el de ratón no son exactamente idénticos en sus dominios de unión al ADN y al ligando<sup>76</sup>, y se ha visto que el cambio de un solo aminoácido en el LBD del PPAR $\alpha$  altera profundamente su actividad transcripcional<sup>77</sup>.

Parece ser que también hay una competición entre los diferentes isotipos de PPAR<sup>78</sup>. El subtipo PPAR $\beta$  se ha propuesto que actúa como antagonista fisiológico del PPAR $\alpha$  en humanos<sup>78</sup>, por lo que la mayor expresión del PPAR $\beta$  en células humanas que en células de roedores podría implicar una reducción de la actividad del PPAR $\alpha$  en células humanas<sup>55</sup>. Sin embargo, otros autores han propuesto que las funciones de los PPAR  $\alpha$  y  $\beta$  pueden ser redundantes como reguladores transcripcionales, por lo que se ha indicado que el subtipo beta podría compensar la deficiencia del PPAR $\alpha$ <sup>79</sup>. De una forma similar, la función del PPAR podría antagonizarse mediante la dimerización del receptor hepático X de tipo alfa (*liver X receptor alpha*, LXR $\alpha$ ) con el PPAR $\alpha$  o con el RXR $\alpha$ , lo que genera un complejo incapaz de unirse a su elemento respuesta en el ADN<sup>46</sup>. Para complicar aún más el asunto, mientras que ciertos ácidos grasos pueden actuar tanto de agonistas de PPAR $\alpha$ , como de antagonistas del LXR, los ésteres de fibratos pueden presentar actividad tanto agonista como antagonista con el LXR<sup>80</sup>.

Aún más, el complejo PPAR:RXR también reconoce el elemento respuesta a estrógenos (ERE)<sup>81</sup>. Por ello, hay la posibilidad de una reacción hormonal cruzada a través del ERE<sup>81</sup> y que algunos genes puedan estar regulados de una manera totalmente opuesta por el receptor de estrógenos (ER) y por el heterodímero PPAR:RXR. Así, por ejemplo, estudios llevados a cabo en ratones normales (*wild-type*), en roedores deficientes en receptor LDL, y en ratones sometidos a una ovariectomía, han indicado el papel fundamental de los estrógenos en la regulación por fibratos de la obesidad y de la hipertriacilglicerolemia<sup>82</sup>. De hecho, en un estudio reciente realizado con ratones ovariectomizados, el tratamiento concomitante con fenofibrato y estradiol mostró que esta hormona revierte los efectos del fibrato en los lípidos plasmáticos, así como en la expresión hepática de los genes diana del PPAR $\alpha$ <sup>83</sup>. De forma similar, en ratas gestantes a tér-

mino tratadas con fenofibrato, podría haber una competición entre el fibrato y el estradiol, cuyos valores son extremadamente altos al final de la gestación<sup>84</sup>, por ser la molécula que lidere el metabolismo lipídico<sup>38,85</sup>. Además, y de acuerdo con todo esto, parece ser que el sexo del animal influye en cómo responde a cambios inducidos en la expresión de PPAR $\alpha$ , ya que se han encontrado diferencias relacionadas con el sexo del animal en los fenotipos resultantes de ratones carentes de PPAR $\alpha$  o en los resultados obtenidos tras la utilización de ARN pequeño de interferencia (siRNA, del inglés *small interfering RNA*) para anular la expresión de PPAR $\alpha$ <sup>86</sup>. Curiosamente, la atorvastatina, un agente hipolipemiente que como otras estatinas es capaz de inducir la expresión hepática de PPAR $\alpha$  en ratas<sup>87,88</sup>, produce una respuesta muy dispar entre ratas viejas macho y hembra. De hecho, las ratas viejas hembras son prácticamente resistentes a los efectos de la estatina en el metabolismo lipídico, y ello se achaca a que probablemente los valores altos de estrógenos están inhibiendo la actividad transcripcional del PPAR $\alpha$ <sup>89</sup>. Sin embargo, no puede descartarse la posibilidad de que los proliferadores peroxisómicos puedan también producir cambios en los valores séricos de estradiol<sup>85</sup>. De hecho, se ha visto que los proliferadores peroxisómicos pueden alterar la expresión de algunos genes relacionados con la síntesis de hormonas esteroideas<sup>90</sup>, aunque, hasta la fecha, sólo se ha encontrado uno de estos genes que está regulado de manera dependiente por el PPAR $\alpha$ <sup>85,90</sup>.

#### *Fosforilación y otras modificaciones postraduccionales*

El proceso de fosforilación-desfosforilación es un importante mecanismo de regulación de la actividad transcripcional de los receptores nucleares. De hecho, el PPAR $\alpha$  es una fosfoproteína y su función se encuentra influida por la acción de quinasas y fosfatasa<sup>92</sup>. En la región N-terminal, cercano al DBD del PPAR $\alpha$ , se encuentra el dominio AF-1 que puede fosforilarse<sup>93</sup>, por lo que la actividad del PPAR $\alpha$  depende de su estado de fosforilación<sup>94</sup>. De esta forma, es posible que la activación del PPAR $\alpha$  por mecanismos independientes del ligando esté asociada con procesos dependientes de quinasas<sup>92</sup>. Los activadores de la proteína quinasa A (PKA) pueden aumentar la actividad del PPAR $\alpha$ , tanto en ausencia como en presencia de agonistas de este receptor<sup>95</sup>. No obstante, se ha observado que la fosforilación del PPAR $\alpha$  puede estar aumentada por tratamiento con proliferadores peroxisómicos, como ciprofibrato<sup>40</sup>. Además, el tratamiento de cé-



lulas con inhibidores de fosfatasa disminuye los valores de expresión de los genes inducidos por el ciprofibrato<sup>94</sup>. La insulina también aumenta la fosforilación del PPAR $\alpha$ , e incrementa su actividad transcripcional<sup>96</sup>. Por otro lado, se ha visto que la actividad del PPAR $\alpha$  también es modulada por la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK)<sup>93</sup>. De esta forma, la inhibición de la MAPK reduce la actividad del PPAR $\alpha$ <sup>92</sup>. Además, inhibidores de la enzima HMG-CoA reductasa, como la cerivastatina, que actúan a través de la isoprenilación de la proteína G pequeña Rho A, pueden regular la señal de MAPK y, con ello, modular la actividad transcripcional del PPAR $\alpha$ <sup>97</sup>. Ésta es una interferencia (*cross-talking*) importante entre los fibratos y las estatinas<sup>92</sup>. A su vez, la modificación del estado de fosforilación del PPAR afecta a su afinidad por el ligando<sup>46</sup>.

Además de la fosforilación de la proteína, la S-nitrosilación puede ser crítica en la regulación por receptores nucleares de las funciones celulares vitales. El óxido nítrico (NO) interacciona con residuos de cisteína formando un enlace nitrosotiol, que altera la actividad de este tipo de proteínas. Así, por ejemplo, el NO inhibe significativamente la unión del ER al ADN a través de su ERE. Es más, el ER contiene una zona con 2 dedos de cinc y 4 cisteínas en cada uno, con una elevada homología con otros miembros de la superfamilia de receptores nucleares, como los PPAR<sup>98</sup>.

Se han identificado numerosas proteínas similares a la ubiquitina, capaces de unirse a residuos de lisina en proteínas diana. La más conocida es el pequeño modificador relacionado con la ubiquitina (SUMO, del inglés *small ubiquitin-related modifier*) que agrupa una serie de péptidos de unos 100 aminoácidos cada uno, que son capaces de unirse covalentemente a la proteína diana a través de residuos específicos de lisina. La sumoilación de las proteínas tiene funciones variadas, como, por ejemplo, regular la estabilidad de la proteína, su localización nuclear, así como la transcripción génica<sup>99</sup>. La sumoilación de la lisina en posición 107 del PPAR $\gamma$  disminuye su activación transcripcional<sup>100</sup>. La posibilidad más factible es que la sumoilación modifique localmente o totalmente la conformación del dominio AF-1, donde se encuentra un sitio de sumoilación, y modifique la capacidad del PPAR $\gamma$  para interactuar con sus correguladores. El PPAR $\alpha$  también presenta sitios potenciales de sumoilación en la región D. Sin embargo, parece ser que la sumoilación es una modificación más específica del PPAR $\gamma$  que del resto de subtipos de PPAR<sup>101</sup>.

## Funciones del PPAR $\alpha$

### *Efectos en el metabolismo lipídico*

#### Efectos en el catabolismo de las VLDL

La LPL es una enzima clave en el metabolismo de las lipoproteínas que hidroliza los triacilglicéridos (TG) de los quilomicrones y las VLDL<sup>102</sup>. Estudios in vivo indican que, mientras los fibratos y los ácidos grasos inducen claramente un aumento en los valores de ARNm de LPL en el hígado (tabla 1), se han encontrado resultados contradictorios tanto en el tejido adiposo, como en otros tejidos extrahepáticos<sup>29,69,103</sup>. Por lo tanto, el efecto de los agonistas del PPAR $\alpha$  en la eliminación del plasma de las lipoproteínas ricas en TG parece deberse principalmente a cambios en la expresión hepática de los inhibidores (apo C-III) y activadores (apo A-V) de la actividad de la LPL (tabla 1)<sup>29</sup>. De hecho, los valores de apo C-III parecen estar correlacionados positivamente con las concentraciones plasmáticas de TG. Se han indicado diversos mecanismos para explicar los efectos de la activación del PPAR $\alpha$  en la regulación de la expresión del gen de la apo C-III: el primero, sería una competición entre PPAR y HNF-4 por la unión al promotor de la apo C-III. La sustitución de un activador fuerte como el HNF-4, por otro menos activo, como el complejo PPAR:RXR, explicaría una reducción en la expresión de la apo C-III, la cual dependería, por tanto, de la abundancia relativa en la célula de PPAR $\alpha$  y HNF-4. No obstante, se ha observado también que los agonistas del PPAR $\alpha$  disminuyen los valores de proteína del HNF-4<sup>33</sup>. El segundo mecanismo de represión de la apo C-III por los fibratos podría ocurrir por un aumento dependiente del PPAR $\alpha$  en la expresión de un regulador negativo de la transcripción. De acuerdo con esto, los activadores del PPAR $\alpha$  inducen la expresión hepática de Rev-erb $\alpha$ , un receptor nuclear huérfano que es un potente represor de la transcripción<sup>104,105</sup>. A su vez, el PPAR $\alpha$  puede reprimir la transcripción de la apo C-III al interactuar físicamente con otros factores de transcripción, lo que conlleva la formación de complejos inactivos y, por tanto, limita la inducción de la expresión de la apo C-III. Este parece ser el caso del factor transcripcional positivo de la familia *forkhead* (FoxO1, del inglés *forkhead box O1*)<sup>106</sup>. Por otro lado, recientemente se ha descubierto que la apo A-V participa en la regulación de los valores plasmáticos de TG en humanos y roedores, siendo el primer gen que codifica para una apolipoproteína, cuyo aumento en la expresión produce una disminución de los valores de TG. De acuerdo con esto, hepatocitos primarios humanos tratados con

Wy-14,643 o fenofibrato mostraron una inducción fuerte de los valores del ARNm que codifica para apo A-V<sup>73</sup>, a través de la activación del PPAR $\alpha$  y su unión al PPRE funcional. Estos estudios demuestran que la apo A-V es uno de los genes humanos que responde de forma más eficaz a la acción del PPAR $\alpha$  (tabla 1, fig. 1A)<sup>73</sup>. No obstante, no se ha identificado aún un PPRE en el promotor de la apo A-V en la rata, lo que indicaría probablemente otra diferencia adicional entre especies<sup>107</sup>. En resumen, estos hechos muestran que los activadores del PPAR $\alpha$  aumentan el catabolismo de las VLDL, lo que

significa cambios en la composición de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y, con ello, un aumento en su captación del plasma por los tejidos.

#### Efectos en la producción de VLDL

Todo proceso que module la captación y la metabolización de ácidos grasos por el hígado para su conversión en TG afectará la producción de VLDL. El PPAR $\alpha$  desempeña un papel importante en el metabolismo intracelular de los ácidos grasos, ya que regula la expresión de genes implicados en diversos pasos cruciales del metabolismo lipídico.

**Tabla 1. Principales rutas del metabolismo lipídico y genes diana regulados por el receptor activado por proliferadores peroxisómicos**

Genes diana	Función del gen	PPRE
<i>Transporte extracelular</i>		
Apo A-I	Transporte de lípidos por la sangre	Sí
Apo A-II	Transporte de lípidos por la sangre	Sí
Apo A-V	Transporte de lípidos por la sangre	Sí
Apo C-III	Transporte de lípidos por la sangre	No
LPL	Liberación de ácidos grasos de TG de lipoproteínas	Sí
SR-B1	Receptor de HDL	Sí
<i>Transporte intracelular</i>		
FATP	Transporte de ácidos grasos a través de la membrana celular	Sí
FAT/CD36	Transporte de ácidos grasos a través de la membrana celular	Sí
FABP	Unión de ácidos grasos en el ámbito intracelular	Sí
ACBP	Unión de acil-CoA en el ámbito intracelular	Sí
<i>Activación de ácidos grasos</i>		
ACS	Activación de ácidos grasos	Sí
<i>Lipogenia</i>		
EM	Producción de NADPH	Sí
ACC	Síntesis de ácidos grasos	No
FAS	Síntesis de ácidos grasos	No
SCD-1	Desaturación de acil-CoA	Sí
<i>Oxidación</i>		
<i>Mitocondrial</i>		
CPT-1	Entrada de acil-CoA	Sí
MCA	$\beta$ -oxidación	Sí
<i>Peroxisomal</i>		
ACO	$\beta$ -oxidación	Sí
HD (L-PBE)	$\beta$ -oxidación	Sí
TIO	$\beta$ -oxidación	No
D-PBE (Hsd17b4)	$\beta$ -oxidación	No
<i>Microsomal</i>		
CYP4A1	$\omega$ -oxidación	Sí
CYP4A6	$\omega$ -oxidación	Sí
<i>Cetogenia</i>		
HMG-CoA sintasa	Síntesis de cuerpos cetónicos	Sí
<i>Termogenia</i>		
UCP-2	Termogenia	Sí

PPAR $\alpha$  está implicado en la regulación del transporte intracelular y extracelular de ácidos grasos, la activación de éstos, la lipogenia, la oxidación mitocondrial, peroxisomal y microsomal, la síntesis de cuerpos cetónicos y la termogenia. Se indican, además, los genes para los que se ha descrito un elemento respuesta a proliferadores peroxisómicos (PPRE) funcional.

ACBP: proteína de unión de acil-CoA; ACC: acetyl-CoA carboxilasa; ACO: acil-CoA oxidasa; ACS: acil-CoA sintetasa; Apo: apolipoproteína; CPT-1: carnitina palmitoil transferasa 1; EM: enzima málica; FABP: proteína de unión a los ácidos grasos; HDL: lipoproteínas de alta densidad; Hsd17b4: proteína D-bifuncional; LPL: lipoproteína lipasa; MCAD: acil-CoA deshidrogenasa de cadena media; NADPH: nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato; SCD-1: estearoil-CoA desaturasa 1; SR-B1: receptor *scavenger* de tipo B1; TG: triacilglicéridos; TIO: 3-cetoacil-CoA tiolasa; UCP: proteínas desacoplantes.

Así, el PPAR $\alpha$  puede regular la secreción de VLDL mediante distintos mecanismos. El primero de todos, la captación celular de ácidos grasos de cadena larga, se encuentra facilitado y regulado por transportadores de ácidos grasos, como la proteína transportadora de ácidos grasos (FATP) y el transportador de ácidos grasos (FAT), también llamado CD36. La expresión de ambos transportadores es aumentada en el hígado de rata por fibratos y por ácidos grasos (tabla 1, fig. 1A)<sup>102</sup>. Mientras que los transportadores de membrana facilitan el paso de los FFA a través de la membrana plasmática, la acil-CoA sintetasa (ACS) cataliza la esterificación de estos FFA con la coenzima A y genera derivados acil-CoA, lo que previene su salida de la célula, y activa esos ácidos grasos para su utilización tanto en rutas catabólicas como anabólicas. La expresión y la actividad del gen ACS son inducidas por fibratos y ácidos grasos en una gran variedad de tejidos y células (tabla 1, fig. 1A)<sup>108</sup>. Una vez en el citoplasma, los FFA se unen a proteínas transportadoras, como la proteína de unión de ácidos grasos (FABP) y la proteína de unión de acil-CoA (ACBP). Isseman y Green<sup>109</sup> identificaron en roedores un PPRE en el promotor del gen que codifica para la FABP. Así, los fármacos hipolipemiantes son capaces de inducir la expresión de FABP vía PPAR $\alpha$  (tabla 1, fig. 1A)<sup>110</sup>. Por otro lado, algunos estudios han indicado que el complejo PPAR:RXR aumenta la expresión de FABP por competición con COUP-TFII por el sitio DR-1 en el promotor proximal del gen. De esta forma, el contenido relativo celular de COUP-TFII (represor) y PPAR:RXR (activador) determina la expresión diferencial de FABP que se ha encontrado en diversos tipos celulares<sup>111</sup>.

Un proceso que también puede limitar la disponibilidad de ácidos grasos para su conversión en TG y posterior formación de VLDL es el catabolismo de ácidos grasos<sup>29</sup>. El papel crítico de los agonistas del PPAR $\alpha$  en la regulación de la oxidación de los ácidos grasos ha sido bien documentado. De acuerdo con esto, los valores más elevados de expresión del PPAR $\alpha$  se observan en tejidos con un activo catabolismo de ácidos grasos. Como ya se ha comentado, la proliferación peroxisómica fue uno de los primeros efectos descritos en roedores tras la exposición a activadores sintéticos del PPAR $\alpha$  y es un proceso que se ha relacionado con un aumento en la  $\beta$ -oxidación peroxisómica de los ácidos grasos<sup>112</sup>. Esta ruta enzimática es la causa del metabolismo de los ácidos grasos de cadena larga en la que están implicadas secuencialmente las enzimas ACO, enoil-CoA hidratasa/3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa (enzima L-bifuncional, HD) y 3-ce-

toacil-CoA tiolasa (TIO)<sup>113</sup>. Los intermediarios L- y D-hidroxi que se generan en el primer paso de la  $\beta$ -oxidación, posteriormente pueden metabolizarse tanto por la enzima HD, como por la proteína D-bifuncional (Hsd17b4)<sup>114</sup>. Las actividades de todas estas enzimas son estimuladas en respuesta a agonistas PPAR $\alpha$ , lo cual se debe a un aumento en la tasa de transcripción de sus genes (tabla 1, fig. 1A)<sup>115</sup>. Así, por ejemplo, Corton et al<sup>91</sup> mostraron que la expresión de Hsd17b4 aumentaba significativamente tras el tratamiento con proliferadores peroxisómicos a roedores. Más aún, la expresión de la proteasa Tysnd1 (*trypsin domain containing 1*) es inducida por el bezafibrato, un agonista del PPAR $\alpha$ . Recientemente, Kurochkin et al<sup>116</sup> han propuesto un modelo interesante que indica que Tysnd1 interviene en el procesamiento de las enzimas peroxisómicas, ACO, Hsd17b4 y TIO, lo que permite su ensamblaje formando un complejo supramolecular con el objetivo de incrementar aún más la tasa de la  $\beta$ -oxidación.

El análisis del promotor del gen de la ACO condujo a la identificación de 2 PPRE que median en la activación transcripcional por el PPAR $\alpha$ <sup>10</sup>. Poco después, también se caracterizó un PPRE en la secuencia reguladora de la HD<sup>117</sup>. Sin embargo, aunque la TIO es también inducida transcripcionalmente por proliferadores peroxisómicos, hasta el momento no se ha identificado un PPRE funcional en este gen<sup>102</sup>. No obstante, el metabolismo de los ácidos grasos se regula principalmente en el ámbito de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. El primer paso limitante en esta  $\beta$ -oxidación es la entrada de los ácidos grasos a la mitocondria, que se encuentra controlada por un sistema transportador dependiente de carnitina. La carnitina palmitoil transferasa 1 (CPT-1) cataliza la formación de acilcarnitina para su translocación a través de la membrana mitocondrial interna. La expresión del gen que codifica para la CPT-1 es aumentada por ácidos grasos y por proliferadores peroxisómicos (tabla 1, fig. 1A)<sup>112</sup>, y se ha caracterizado además un PPRE funcional en el promotor del gen de la CPT-1<sup>118</sup>. No obstante, en hepatocitos se ha observado que los inhibidores de la lipooxigenasa impiden la activación por fibratos de la expresión de CPT-1, si bien no afectan a la inducción por ácidos grasos<sup>119</sup>. En ese mismo sentido, los proliferadores peroxisómicos, pero no los ácidos grasos de cadena larga, inducen la CPT-2 en hepatocitos fetales de rata<sup>120</sup>. Además, el PPAR $\alpha$  regula a otro nivel la  $\beta$ -oxidación mitocondrial, al modular también la expresión del gen de la acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD) (tabla 1, fig. 1A)<sup>121</sup>. Uno de

los destinos de las unidades de acetyl-CoA producidos por la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria es convertirse en cuerpos cetónicos, principalmente acetoacetato y 3-hidroxibutirato. La hidroximetilglutaril-CoA (HMG-CoA) sintasa mitocondrial es la principal enzima involucrada en la formación de cuerpos cetónicos y se encuentra directamente controlada por el PPAR $\alpha$  (tabla 1, fig. 1A)<sup>122</sup>. Por otro lado, la  $\beta$ -oxidación mitocondrial contribuye enormemente en la producción de energía mediante la fosforilación oxidativa, generando ATP. Sin embargo, el PPAR $\alpha$  parece aumentar el gasto energético al inducir la expresión de proteínas desacoplantes (UCP)<sup>123</sup>, como UCP1, UCP2 (tabla 1) y UCP3, las cuales son transportadores mitocondriales de la membrana mitocondrial interna que actúan disipando el gradiente de protones y aumentando la termogenia, al tiempo que reducen la eficacia en la síntesis de ATP<sup>124</sup>. Por otro lado, el sistema citocromo-monooxigenasa desempeña un papel central en la oxidación de una amplia variedad de compuestos, tanto endógenos como exógenos. Las enzimas CYP4A microsomales participan en el sistema como un grupo aparte de la superfamilia del citocromo P450. Estas enzimas catalizan la  $\omega$ -hidroxilación de ácidos grasos y eicosanoides, como el leucotrieno LTB4. De hecho, la  $\omega$ -hidroxilación es el primer paso en la neutralización del LTB4, para luego degradarse completamente a través de la  $\beta$ -oxidación en los peroxisomas<sup>112</sup>. Al menos 2 genes de la familia CYP4A, CYP4A1 y CYP4A6 contienen un PPRE funcional en su promotor y, por tanto, responden in vivo y en cultivos celulares a activadores del PPAR (tabla 1)<sup>125,126</sup>.

El PPAR $\alpha$  también está involucrado en la síntesis de ácidos grasos. Se ha visto que el gen de la enzima málica (EM) está regulado positivamente por proliferadores peroxisómicos vía PPAR $\alpha$ <sup>127</sup>, a través de un PPRE (tabla 1, fig. 1A). La reacción catalizada por la EM es una descarboxilación oxidativa del malato citosólico, lo que genera piruvato y conduce a la formación de nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH), necesario para la síntesis de lípidos. Sin embargo, el papel del PPAR $\alpha$  parece complejo, ya que otros genes lipogénicos importantes, como la acetyl-CoA carboxilasa (ACC) y el ácido graso sintasa (FAS)<sup>128</sup> son regulados negativamente por los PUFA<sup>128</sup> y por proliferadores peroxisómicos (tabla 1)<sup>129</sup>. Además, la enzima esteroil-CoA desaturasa 1 (SCD-1), que cataliza la  $\Delta$ 9-desaturación de los ácidos grasos saturados, se regula positivamente mediante fibratos, pero negativamente mediante PUFA (tabla 1)<sup>130</sup>. En cuanto

a la expresión de genes relacionados más directamente con la síntesis de TG, se ha identificado recientemente al PPAR $\alpha$  como un estimulador del gen que codifica para la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT)<sup>29</sup>. No obstante, se ha demostrado que los agonistas del PPAR $\alpha$  aumentan la actividad de DGAT en el citoplasma y la disminuyen en el retículo endoplásmico, lo que parece ser la causa de que los TG se acumulen en gotas grasas en el citoplasma, en vez de incorporarse en las VLDL<sup>29,131</sup>.

#### Efectos en el catabolismo de las lipoproteínas de alta densidad

El papel principal de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se encuentra en la eliminación del exceso de colesterol y su transporte desde los tejidos periféricos hacia el hígado, en el denominado transporte reverso de colesterol, y su efecto protector contra el desarrollo de la enfermedad coronaria. El PPAR $\alpha$  parece ser la principal isoforma implicada en el metabolismo de las HDL<sup>29</sup>. Las apo A-I y apo A-II son los principales constituyentes proteicos de la HDL. Es interesante señalar que los activadores del PPAR $\alpha$  afectan al metabolismo de las HDL de manera opuesta en roedores y en humanos. Mientras que el tratamiento con fibratos a ratas disminuye el valor plasmático de HDL, en humanos, por lo general, se observa un aumento<sup>132,133</sup>. Este aumento en los valores plasmáticos de HDL está relacionado, al menos en parte, con cambios en la expresión hepática de apo A-I y apo A-II. Los activadores del PPAR $\alpha$  provocan en humanos un aumento en la transcripción de los genes que codifican para apo A-I y apo A-II (tabla 1, fig. 1A)<sup>134,135</sup>. Por el contrario, estos genes se reprimen en roedores<sup>136</sup>. Vu-Dac et al<sup>135</sup> observaron que el PPAR $\alpha$  se une al PPRE localizado en el promotor del gen de la apo A-I humana. Sin embargo, en roedores, la regulación negativa por fibratos de la expresión del gen de la apo A-I parece ser más compleja. La falta de inducción transcripcional de la apo A-I de rata se debe a una diferencia de 3 nucleótidos entre los promotores de rata y de humano, lo que impide la unión del PPAR $\alpha$  al PPRE de roedores<sup>105</sup>. Por el contrario, el Rev-erb $\alpha$  sí que puede unirse a un elemento respuesta negativo cercano a la caja TATA, el cual está presente sólo en el promotor de la apo A-I de rata<sup>105</sup>. Dado que los fibratos inducen la expresión de Rev-erb $\alpha$  la expresión de apo A-I en roedores puede reprimirse mediante este mecanismo.

Por ende, los fibratos también afectan a la expresión de enzimas y receptores que regulan el me-

tabolismo de las HDL. En rata, los fibratos disminuyen la producción de las enzimas que modifican las HDL, como la lipasa hepática y la lecitina colesteroil aciltransferasa (LCAT)<sup>137,138</sup>. Además, los agonistas del PPAR regulan la expresión de los receptores de HDL. En ratón, el receptor *scavenger* de tipo B1 (SR-B1), y su homólogo humano CLA-I, se han identificado como receptores de HDL, los cuales unen HDL con alta afinidad, median la captación selectiva de ésteres de colesterol por el hígado y por tejidos esteroideogénicos<sup>139,140</sup>, y promueven además la eliminación de colesterol de los tejidos periféricos. De hecho, el tratamiento de macrófagos humanos con activadores del PPAR $\alpha$  provocó una inducción en la expresión de CLA-I, sugiriendo que el PPAR $\alpha$  promueve en macrófagos la salida de colesterol hacia las HDL<sup>29</sup>. Además, se ha encontrado que el SR-B1 es inducido en aortas de ratones deficientes en apo E después del tratamiento con agonistas del PPAR (tabla 1, fig. 1A). Por el contrario, los fibratos, a través del PPAR $\alpha$ , reducen la expresión del gen que codifica para el SR-B1 en el hígado de roedores<sup>141</sup>.

#### *Efectos en el metabolismo de la glucosa*

Los PPAR también desempeñan un papel importante en la homeostasis glucídica. Los agonistas del PPAR $\alpha$ , a través de un aumento en la oxidación de los ácidos grasos y en la producción de los cuerpos cetónicos, promueven un ahorro en el gasto de glucosa. De acuerdo con esto, ratones carentes de PPAR $\alpha$  presentan hipoglucemia durante el ayuno, debida a una menor capacidad gluconeogénica hepática y a una disminución en la capacidad de oxidar ácidos grasos<sup>142</sup>. Además, algunos estudios indican un efecto beneficioso de la activación del PPAR $\alpha$  en la sensibilidad insulínica<sup>143,144</sup>. De este modo, el tratamiento con fibratos disminuye de forma eficaz la hiperinsulinemia y la hiperglucemia observadas en ratones alimentados con una dieta rica en grasas o en ratones genéticamente resistentes a la insulina<sup>143,145</sup>.

De una manera más específica, la piruvato cinasa hepática (L-PK) es una enzima glucolítica que desempeña un papel clave en el metabolismo glucídico y lipídico. La transcripción del gen de la L-PK es inhibida por PUFA  $\omega$ -3 y por activadores del PPAR $\alpha$ . Además, los PUFA y Wy-14,643 interfieren, aunque por mecanismos diferentes, en la estimulación por glucosa de la transcripción del gen de la piruvato cinasa, tanto in vivo como en hepatocitos primarios de rata<sup>146</sup>. Por otro lado, la piruvato deshidrogenasa cataliza la transformación de piruvato en acetil-CoA y, por tanto, controla la transforma-

ción del piruvato en diversos compuestos metabólicos, como ácidos grasos, aminoácidos o su oxidación completa. El PPAR $\alpha$  también ejerce un papel directo en la regulación de la gluconeogenia mediante la estimulación de la expresión de la piruvato deshidrogenasa quinasa 4 (PDK4)<sup>147</sup>. Esta enzima inactiva, mediante fosforilación, el complejo piruvato deshidrogenasa, y promueve la utilización de piruvato en la gluconeogenia más que su oxidación a acetil-CoA. En ratones carentes de PPAR $\alpha$  ayunados, la síntesis de glucosa desde lactato se encuentra fuertemente reducida, lo que demuestra que el PPAR $\alpha$  también influye en la utilización de este sustrato para la producción de glucosa en el hígado. Sin embargo, la producción hepática de glucosa en ayunas fue sorprendentemente mayor en ratones carentes de PPAR $\alpha$  que en los animales normales, debido a una aumentada producción de glucosa desde glicerol en esos animales<sup>148</sup>. Estos datos revelan que la hipoglucemia grave observada en ratones carentes de PPAR $\alpha$  durante el ayuno no se debe a una menor producción de glucosa en el hígado, sino a un aclaramiento mayor de glucosa a otros tejidos, como por ejemplo una captación mayor de glucosa por el tejido adiposo<sup>149</sup>. Otra enzima de la ruta de biosíntesis de glucosa que se encuentra regulada por el PPAR $\alpha$  es la PEPCK, que cataliza un paso limitante de la gluconeogenia. No obstante, hay resultados contradictorios respecto a la consideración de la PEPCK como gen diana del PPAR $\alpha$  en el hígado<sup>45</sup>, dado que la expresión del gen que codifica para la PEPCK está estimulada en estado de ayuno, tanto en ratones normales como en ratones carentes del PPAR $\alpha$ <sup>142</sup>. De hecho, aunque el promotor del gen de la PEPCK contiene 2 secuencias DR1<sup>150</sup>, este gen sólo es sensible a la acción de los ácidos grasos en adipocitos, pero no en hepatocitos<sup>70</sup>.

#### *Efectos en el metabolismo proteico*

Los aminoácidos, además de ser sustratos para la síntesis de neurotransmisores, nucleótidos y poliaminas, también desempeñan un papel importante en el aporte de energía. El mantenimiento del equilibrio nitrogenado es determinado por la homeostasia de la glutamina y el ciclo de la urea<sup>19</sup>. El PPAR $\alpha$  actúa como un regulador negativo del ciclo de la urea, e inhibe la expresión de enzimas de este ciclo, como la carbamoil fosfato sintasa tipo I (CPS-I), entre otras<sup>151</sup>. Las 2 fuentes principales de la producción de amonio en el organismo son el catabolismo de las proteínas de la dieta y la degradación de proteínas endógenas que ocurre después de un ayuno prolongado. Mientras que ratones

normales tras el ayuno presentan una disminución en los valores de urea en plasma, en ratones carentes de PPAR $\alpha$  permanecen elevados. Puesto que el HNF-4 y el C/EBP $\alpha$  son reguladores positivos del ciclo de la urea, el modo de regulación de esta vía podría ser el resultado del equilibrio entre la activación (por HNF-4 y/o C/EBP) y la inhibición (por PPAR $\alpha$ ) de la actividad de este ciclo<sup>148,151</sup>.

#### *Efectos en la inflamación vascular y hepática*

El papel de la inflamación en la aterosclerosis está bien establecido<sup>18</sup>. Las lesiones vasculares de la aterosclerosis no son sólo el resultado de la acumulación de lípidos, sino también el resultado de un daño vascular que conduce a la activación de una respuesta específica celular y molecular, tanto en la pared vascular como en el sistema inmunitario<sup>152</sup>. En relación con esto, los PPAR se expresan en células del sistema vascular y del sistema inmunitario: monocitos, macrófagos, linfocitos, EC y VSMC<sup>30</sup>. Se ha demostrado claramente el papel del PPAR $\alpha$  en la inflamación en ratones carentes de PPAR $\alpha$ , los cuales presentan una respuesta inflamatoria prolongada tras la estimulación provocada por leucotrienos y ácido araquidónico<sup>27</sup>. La activación del PPAR $\alpha$  por el LTB<sub>4</sub> induce la  $\beta$ -oxidación peroxisómica de estos leucotrienos en el hígado de roedores, lo que conlleva un control negativo retroinhibitorio del estímulo inflamatorio provocado por este lípido que no se da en los ratones carentes de PPAR $\alpha$ <sup>46</sup>. No obstante, otros autores<sup>153</sup> han cuestionado esta regulación negativa del metabolismo de los LTB<sub>4</sub> en hepatocitos mediada por el PPAR $\alpha$ . Los PPAR controlan diversos mecanismos en el ámbito vascular que incluyen: la selección y la activación de células, la respuesta inflamatoria local, la constricción vascular, y la migración celular y la trombosis<sup>18,48</sup>. Como ya se ha comentado anteriormente, el PPAR $\alpha$  inhibe la expresión de genes marcadores de inflamación inducidos por NF- $\kappa$ B, como la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y las interleucinas (IL-6 e IL-1) (fig. 1B), lo que daría una explicación molecular a los efectos antiinflamatorios de los ligandos del PPAR $\alpha$  in vivo. Es más, de forma similar a los agonistas sintéticos de PPAR $\alpha$ , las VLDL tratadas con LPL reprimen la expresión de VCAM-1 inducida por citocinas en EC de ratones normales (*wild-type*), pero no en las células de ratones carentes de PPAR $\alpha$ <sup>58</sup>. Recientemente se han descrito los mecanismos moleculares que están implicados en la interacción del PPAR $\alpha$  con la señal inflamatoria a diferentes niveles<sup>152</sup>. El PPAR $\alpha$  también inhibe la producción de endotelina 1 (ET-1)

y factor tisular (TF) en EC, VSMC y macrófagos (fig. 1B)<sup>154,155</sup>, y aumenta la expresión de la sintasa endotelial de óxido nítrico (eNOS) en células vasculares<sup>156</sup>. Todos estos efectos mejoran la función endotelial, aumentan la producción de óxido nítrico<sup>156</sup>, y generan un efecto vasodilatador protector. En células humanas de la musculatura lisa aórtica, la activación del PPAR $\alpha$  por fibratos inhibe la secreción de IL-6 inducida por IL-1<sup>157</sup>. Además, Delrive et al<sup>31</sup> han observado que las aortas de ratones carentes de PPAR $\alpha$  presentan una respuesta inflamatoria exagerada tras la estimulación por lipopolisacáridos (LPS), y demuestran in vivo que la actividad antiinflamatoria de los agonistas del PPAR $\alpha$  requiere la expresión del receptor nuclear. La metaloproteinasa de la matriz 9 (MMP-9)<sup>158</sup> y el TF<sup>159</sup> son proteínas localizadas en el macrófago que promueven la inestabilidad de la lesión y la coagulación, respectivamente. Los agonistas del PPAR $\alpha$  inhiben in vitro la expresión de estas proteínas en macrófagos (fig. 1B), y aportan un posible mecanismo por el cual los agonistas del PPAR $\alpha$  estabilizan ateromas y reducen la trombogénesis.

Dado que el PPAR $\alpha$  se expresa en valores muy elevados en hígado, era de esperar que tuviera un papel regulador de la respuesta inflamatoria en el hígado<sup>152</sup>. La respuesta de fase aguda es un proceso inflamatorio clave para que se inicien los mecanismos de defensa. Sin embargo, puede ocasionar alteraciones importantes si la activación se hace crónica. Tanto la IL-6 como la IL-1 estimulan la producción de proteínas de fase aguda, como la proteína C reactiva (PCR), el fibrinógeno y el amiloide sérico A (SAA), los cuales son marcadores de enfermedad cardiovascular. Los fibratos actúan como reguladores negativos de todas estas y otras proteínas de fase aguda positivas (fig. 1B)<sup>160,161</sup>. Se ha indicado que la base molecular de la inhibición de la expresión inducida por IL-6 de las cadenas del fibrinógeno  $\alpha$  y  $\beta$  y de la expresión de SAA, se debe a la interferencia del PPAR $\alpha$  con la señal del C/EBP<sup>34</sup>. Se ha descrito un mecanismo similar, pero que interfiere con la señal del NF- $\kappa$ B, para la inhibición mediada por fibratos de la expresión de PCR inducida por IL-1 (fig. 1B)<sup>162</sup>. Por tanto, la expresión de proteínas de fase aguda está regulada negativamente por activadores del PPAR $\alpha$ , y sus valores en plasma se encuentran disminuidos en humanos después del tratamiento con fibratos. De hecho, el tratamiento con fenofibrato en pacientes dislipémicos disminuye las concentraciones en plasma de fibrinógeno, SAA, IL-6 y PCR<sup>163</sup>, mientras que los valores de albúmina, una proteína de fase aguda negativa, aumentan<sup>152</sup>.

### Efectos inesperados de la activación del PPAR $\alpha$

Desde hace décadas, el uso de los fibratos como agentes hipolipemiantes ha demostrado su seguridad y eficacia para disminuir la lipemia y como antiinflamatorios, parámetros fundamentales en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. La activación de PPAR $\alpha$  se ha comprobado que reduce los síntomas del síndrome metabólico y otras manifestaciones de resistencia a la insulina, como son obesidad visceral, resistencia a la insulina, inflamación y dislipemia aterogénica, o lo que es lo mismo, valores bajos de HDL, triacilglicerolemia elevada, y LDL pequeñas y densas. Sin embargo, diversos trabajos han revelado que esos agonistas del PPAR $\alpha$  pueden potencialmente generar efectos adversos o presentar una capacidad hipolipemiante disminuida, así como una acción antiinflamatoria ineficiente.

De cualquier manera, bien es verdad que los diversos factores que pueden modular la actividad del PPAR $\alpha$  (su contenido celular, la naturaleza del ligando, las reacciones hormonales cruzadas, la estructura del PPRE e incluso las modificaciones postraduccionales del receptor) podrían explicar, al menos en parte, por qué los fármacos activadores de PPAR $\alpha$  muestran en ocasiones una acción hipolipemiante tan variable, a veces incluso ineficiente, o por qué se obtienen resultados tan diversos en estudios clínicos cardiovasculares en los que se han usado estos agentes<sup>164</sup>, o bien por qué producen efectos secundarios<sup>58</sup>, que en algunos casos han limitado su uso.

#### Metabolismo lipídico

Aunque hay diversos estudios que muestran una relación inversa entre el contenido hepático del ARNm que codifica para el PPAR $\alpha$  y los valores plasmáticos de TG<sup>88,165</sup>, otros estudios han descrito que los fibratos pueden fallar o corregir de manera insuficiente la hipertriacilglicerolemia en determinadas condiciones. Entre ellos, un tratamiento agudo con fenofibrato a ratas Zucker hipertriacilglicerolémicas y obesas provocó un aumento marcado en los TG cuando se comparó con ratas controles obesas no tratadas<sup>166</sup>. En relación con esto, en otro estudio se observó que las ratas Zucker no tratadas presentaban un aumento en los TG plasmáticos después de 4 semanas, cuando se comparaban con el día inicial del experimento. Es de reseñar que, en este mismo estudio, el tratamiento semicrónico con fenofibrato solamente fue capaz de evitar ese aumento en los valores de TG observado en las ratas controles, mientras que la rosiglitazona, un ligando del PPAR $\gamma$ , sí era capaz de reducir de forma eficaz

la hipertriacilglicerolemia<sup>167</sup>. Bien es verdad que, en paralelo con las ratas Zucker, se usaron ratones *db/db*, y en estos animales el fenofibrato administrado durante 2 semanas fue capaz de evitar, e incluso disminuir, la hipertriacilglicerolemia observada en los ratones control, de forma similar a cómo lo hacía la rosiglitazona<sup>167</sup>. En otro estudio, en el que se comparaban los efectos de los fibratos en ratones alimentados con diversas dietas hiperlipídicas, se observó que en los animales que recibieron dieta estándar, tanto fenofibrato como gemfibrocilo, los valores de TG disminuían, mientras que en los animales que recibieron dieta hipercolesterolémica, tan sólo el tratamiento con fenofibrato conseguía disminuir los valores de TG plasmáticos<sup>168</sup>. Una situación similar se observó en el grupo de animales alimentados con una dieta hipertriacilglicerolémica, ya que el tratamiento con fenofibrato provocó una disminución de los valores de TG plasmáticos, aunque no de forma dependiente de la dosis, y el tratamiento con gemfibrocilo ni siquiera afectó a la hipertriacilglicerolemia<sup>168</sup>. Más aún, en algunos casos se han encontrado efectos contrapuestos de diferentes fibratos, tanto en ratas normales como en hiperlipídicas. Según esto, en un estudio en el que se usaron bezafibrato y gemfibrocilo, ambos fármacos consiguieron disminuir de forma similar los TG plasmáticos en las ratas alimentadas tanto con dieta normal, como hipertriacilglicerolémica. Sin embargo, el tratamiento con gemfibrocilo disminuyó el colesterol unido a las LDL (cLDL), pero elevó el colesterol unido a las HDL (cHDL), mientras que el bezafibrato provocó efectos opuestos<sup>169</sup>. Además, la administración de estos compuestos originó cambios opuestos en las concentraciones de TG hepáticos en las ratas hipertriacilglicerolémicas<sup>169</sup>. Los fibratos también mostraron efectos inesperados con otros modelos animales, como fue el caso de ratas al final de la gestación, las cuales presentan de forma fisiológica hipertriacilglicerolemia cuando se comparan con ratas no gestantes<sup>69</sup>. Es más, como se ha comentado para el caso de las ratas Zucker obesas, las ratas gestantes también presentan una hipertriacilglicerolemia que aumenta con el tiempo. De esta forma, aunque los valores de TG plasmáticos disminuían en las ratas gestantes durante los primeros 2 días de tratamiento con el fenofibrato, el efecto desaparecía al tercer día, e incluso se observaba un incremento de los TG plasmáticos en el cuarto día. Por el contrario, en las ratas vírgenes, el fenofibrato disminuyó los TG plasmáticos durante todo el experimento. Por otro lado, se ha observado una falta de sensibilidad a los activadores del PPAR $\alpha$  en ratas vírgenes,

en comparación con madres lactantes<sup>170</sup>. Los fibratos inducen la expresión del ARNm que codifica para la UCP-3 en el músculo esquelético de ratas durante la lactancia, mientras que no se consigue una activación similar en las ratas vírgenes. No obstante, dado que los FFA también inducen la expresión de UCP-3 y que los valores de FFA en suero son mucho más elevados en ratas no preñadas que en las madres lactantes, la falta de efecto de los fibratos en las vírgenes podría achacarse a que la ruta ya estaba completamente activada<sup>170</sup>. Por otro lado, otra situación en la que se observan respuestas inesperadas de los agonistas del PPAR $\alpha$  es el envejecimiento. Las ratas viejas presentan una reducción drástica en la expresión y actividad hepáticas del PPAR $\alpha$ . De hecho, se hacen resistentes al tratamiento con gemfibrocilo o con bezafibrato, ya que estos fármacos no consiguen la típica acción hipotriacilglicerolemiante, ni inducen un aumento significativo de la expresión hepática de los genes diana del PPAR $\alpha$ , ni siquiera en dosis en las que sí son efectivos en animales jóvenes<sup>164,165</sup>. En definitiva, estos estudios indican que el efecto de los fibratos en la triacilglicerolemia podría depender del animal empleado, del grado de hipertriacilglicerolemia o incluso de la cantidad de ácidos grasos que se movilizan hacia el hígado<sup>69,167</sup>.

Igualmente, se han encontrado efectos inesperados de los fibratos en ratones transgénicos y *knock-out*. Así, los ratones carentes de apo E, un modelo de ratón que presenta características similares a la dislipemia y aterosclerosis humanas, mostraban valores elevados de TG. Paradójicamente, el tratamiento de estos animales con fenofibrato aumentó los valores de TG cuando se compararon con los controles<sup>171</sup>. De acuerdo con ello, en ratones carentes de apo E tratados con cibrofibrato, se ha observado un aumento considerable de las lesiones ateroscleróticas, si se comparan con el efecto en los animales no tratados<sup>172</sup>. Es más, en ratones transgénicos que portan apo A-II humana, los cuales comparten algunas características fenotípicas con los ratones carentes de PPAR $\alpha$ , la activación del PPAR $\alpha$  por fibratos no era capaz de corregir la hiperlipemia combinada que presentaban. De hecho, tras 2 semanas de tratamiento con fenofibrato, estos ratones transgénicos con apo A-II humana mostraban un aumento inesperado de los TG plasmáticos, debido principalmente a un catabolismo menor de las VLDL y a un peor funcionamiento de la señalización mediada por el PPAR $\alpha$ <sup>173</sup>.

En humanos también se han descrito casos en los que los fibratos han mostrado ser ineficientes o incapaces de corregir de forma eficaz la hipertriacil-

glicerolemia en determinadas circunstancias<sup>174,175</sup>, como por ejemplo, en la hiperlipemia grave combinada, o en el tratamiento combinado con tratamiento hormonal sustitutivo en mujeres obesas posmenopáusicas<sup>176</sup>. Es interesante señalar que la hipertriacilglicerolemia es un indicador potente de enfermedad coronaria<sup>177</sup>. Ello podría significar que muchos pacientes no estarían recibiendo un tratamiento apropiado para la dislipemia que acompaña generalmente a la enfermedad cardiovascular, a las situaciones de resistencia a la insulina y/o al síndrome metabólico. En este sentido, la monoterapia con fibratos no es generalmente capaz de normalizar el perfil lipídico que acompaña a la hiperlipemia combinada grave. Realmente, los fibratos son más activos en la hipertriacilglicerolemia, mientras que las estatinas son más activas en la hipercolesterolemia, que son los 2 componentes de esta hiperlipemia<sup>175</sup>. En un estudio realizado con mujeres con sobrepeso, posmenopausia e hipertriacilgliceridemia, se observó que la combinación de un agente hipolipemiente del tipo fibrato junto con el estradiol que se administraba como tratamiento hormonal sustitutivo durante 3 meses, no sólo no tenía efectos beneficiosos en los perfiles lipídicos o lipoproteicos, sino que incluso producía un incremento en los TG en plasma<sup>176</sup>. Estos resultados concordarían con los observados en ratones ovariectomizados, donde la administración conjunta de estradiol y fenofibrato no tenía efectos aditivos, sino que más bien la hormona parecía suprimir la acción hipolipemiente del fibrato<sup>83</sup>. Por otro lado, para pacientes con diabetes que tienen hipertriacilglicerolemia, parece ser que el gemfibrocilo es el tratamiento más efectivo; sin embargo, no todos los pacientes toleran bien el tratamiento con este fármaco<sup>174</sup>. De cualquier manera, uno de los casos más evidentes es el descrito en individuos afectados por hipertriacilglicerolemia masiva que responden poco o nada al tratamiento con fibratos, con PUFA o con la asociación de fibratos y PUFA<sup>178</sup>. Realmente, en estos casos de hipertriacilglicerolemia extrema puede requerirse el tratamiento combinado de gemfibrocilo y niacina para reducir los TG a valores aceptables<sup>174</sup>. Curiosamente, el tratamiento con coenzima Q10 mejora la eficacia del fenofibrato en los pacientes con hipertriacilglicerolemia masiva que no responden a fenofibrato, posiblemente debido a un efecto directo en la mitocondria, con el incremento de la oxidación de los ácidos grasos, lo que consecuentemente provoca una reducción de los valores circulantes de FFA<sup>179</sup>.

Una observación que se repite en los pacientes tratados con fibratos es la variación considerable que se produce en los cambios lipídicos inducidos



por el tratamiento. Se ha visto que los valores del PPAR $\alpha$  en el hígado humano pueden variar más de 2 veces entre diferentes individuos, por lo que es posible que esa respuesta interindividual diferente al tratamiento con fibratos se deba a los diferentes valores de expresión del PPAR $\alpha$ <sup>43</sup>. No obstante, los diversos polimorfismos descritos en el gen del PPAR $\alpha$  pueden contribuir también a la diferente respuesta al tratamiento con fibratos<sup>50</sup>. De hecho, se ha encontrado un efecto dependiente del genotipo en la respuesta al tratamiento con gemfibrocilo<sup>180</sup>, así como con fenofibrato<sup>181</sup>, en los valores de cHDL, que se ha relacionado con el polimorfismo Leu162Val del PPAR $\alpha$ . La sustitución de leucina por valina (Leu162Val) que se ha descrito en el gen del PPAR $\alpha$  da lugar a un receptor funcional, pero afecta a su activación transcripcional por ligando, según la concentración de éste<sup>182</sup>. El polimorfismo Leu162Val afecta al DBD del PPAR $\alpha$ , de manera que el receptor mutante no puede unirse a los PPRE de forma tan eficiente como el receptor normal (*wild-type*). Sin embargo, para la forma mutante del receptor, la pobre activación que se observa con dosis bajas de ligando se normaliza e incluso aumenta a dosis elevadas, en comparación con la forma *wild-type*<sup>183</sup>. Por ende, se ha indicado que el efecto del polimorfismo Leu162Val del PPAR $\alpha$  en la concentración de TG plasmáticos depende de la ingesta de PUFA en la dieta<sup>182</sup>. Por otro lado, se dividió a los pacientes de un estudio, sometidos al tratamiento durante 3 años con fenofibrato, en muy sensibles o poco sensibles al tratamiento, tomando como indicador el grado de TG plasmáticos. En los pacientes muy sensibles al fenofibrato, había una prevalencia elevada de homocigotos GG en el intrón 7 del gen del PPAR $\alpha$ , si se comparaba con los individuos de respuesta baja<sup>184,185</sup>. Se desconocen los mecanismos por los cuales la mutación en el intrón 7 puede influir en la disminución de los TG en respuesta al fenofibrato. Hay numerosos ejemplos de regiones reguladoras situadas en la zona de los intrones que afectan a la expresión del ARNm y los valores de proteína. Sin embargo, parece poco probable que la variante en el intrón 7 del gen del PPAR $\alpha$  resulte por sí misma funcional, ya que no está cercana a la secuencia del sitio de ramificación para el ajuste (*splicing*)<sup>184</sup>. Entonces queda por dilucidar si el polimorfismo G/C del intrón 7 está directamente implicado en el control genético del valor de PPAR $\alpha$ , o si solamente es un marcador de desequilibrio de ligamiento con una variante reguladora del gen PPAR $\alpha$ . Por otro lado, se ha descrito que hay una relación entre las variaciones genéticas frecuentes de genes que codifican por proteínas relacionadas con el metabolismo de las li-

poproteínas ricas en TG y la efectividad del fenofibrato en disminuir los valores de TG plasmáticos en individuos hipertriacilglicerolémicos. De este modo, los portadores de la mutación no sinónima (*missense*) Pro207Leu de la LPL, así como los de la Thr94Ala de la L-FABP presentan una hipertriacilglicerolemia residual después del tratamiento con fibratos<sup>181,186</sup>. En cuanto al polimorfismo del gen de la apo E, el alelo apo E2 está asociado con una respuesta mejor al fenofibrato en todos los parámetros lipídicos cuando se compara con las variantes E3 y E4. Es más, la presencia simultánea de apo E2 y del polimorfismo Leu162Val del PPAR $\alpha$  tiende a mejorar la respuesta al fenofibrato en los individuos heterocigotos Pro207Leu para LPL<sup>181</sup>.

En algunos estudios clínicos con variables cardiovasculares como criterios de evaluación, los fibratos presentaron bien efectos beneficiosos, pero restringidos a ciertos tipos de pacientes, bien resultados negativos (recientemente revisado por Sanguino et al<sup>164</sup>). De acuerdo con esto, en el estudio Helsinki Heart Study (HHS), la reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular después del tratamiento con gemfibrocilo era más pronunciada en los pacientes obesos con síndrome metabólico o diabetes y dislipemia aterogénica<sup>163,187</sup>. En el ensayo clínico Bezafibrate Infarction Prevention (BIP), la reducción de casos coronarios después del tratamiento con bezafibrato se observó tan sólo en los pacientes con valores elevados de TG en plasma. En el estudio clínico Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (VA-HIT), el efecto beneficioso significativo del gemfibrocilo se observó en pacientes diabéticos o en no-diabéticos con valores altos de insulina<sup>48</sup>. Es más, en el estudio clínico Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD), aunque el fenofibrato lograba disminuir tanto los valores de TG como los de cLDL, e incrementaba ligeramente el cHDL, no era capaz de reducir el riesgo de presentar episodios coronarios. Realmente, debido a la heterogeneidad de los individuos de estos estudios, las conclusiones realmente útiles se obtuvieron tras analizar los resultados de un subgrupo especial dentro la población total de pacientes<sup>164</sup>. Es más, en algunas ocasiones la interpretación de los estudios resultaba complicada, debido a que se usaban varios fármacos a la vez; por ejemplo, en el estudio FIELD, se utilizó de manera progresiva durante el estudio diferentes estatinas en los 2 grupos de estudio (placebo y fenofibrato)<sup>163,188</sup>. Por otro lado, se debería tener también en cuenta la influencia de otros factores, como la edad o la presencia de polimorfismos, en la efectividad de los fibratos. Así, por ejemplo, el análisis a posteriori de

los datos del estudio FIELD, así como en el estudio Low Extremity Arterial Disease Event Lowering in Diabetes (LEADER), mostró una marcada disminución en los episodios cardiovasculares en la población de pacientes menores de 65 años, lo que indicaba que los pacientes mayores de 65 años eran los que no respondían a la administración del fibrato, y se perfilaba como una de las causas posibles de los resultados negativos obtenidos en estos estudios clínicos con fibratos<sup>164</sup>. Este resultado estaría además en consonancia con lo observado en animales viejos<sup>165</sup>. Es posible que se llegara a conclusiones similares si en estos estudios se examinase la posible asociación entre las variantes del gen *PPAR $\alpha$*  y la respuesta al tratamiento con fibratos. Por ejemplo, en el estudio St. Mary's, Ealing, Northwick Park Diabetes Cardiovascular Disease Prevention (SEND CAP), se observó una reducción mayor de colesterol total en respuesta al bezafibrato en los portadores del alelo *PPAR $\alpha$*  Val162 que en los que presentaban la variante Leu162<sup>184</sup>. Relacionado con esto, en el estudio VA-HIT se ha observado que la asociación entre el polimorfismo *PPAR $\alpha$*  Leu162Val y el riesgo de presentar un episodio cardiovascular, así como la respuesta al tratamiento con gemfibrocilo, son más evidentes en los pacientes con resistencia a la insulina o diabetes mellitus<sup>189</sup>. Además, es necesario tener en cuenta que las primeras generaciones de fibratos (gemfibrocilo y bezafibrato) que se usaron en los estudios clínicos más antiguos son menos específicas para el *PPAR $\alpha$*  que los fibratos de generaciones posteriores, como el fenofibrato, y que, por lo tanto, aquéllos actuarían, al menos en parte, también a través de *PPAR $\gamma$*  y/o *PPAR $\beta$* <sup>184</sup>. Finalmente, parece ser que compuestos del tipo  $\beta$ -caroteno son capaces de inhibir la activación del *PPAR $\alpha$*  por sus agonistas<sup>58</sup>. Es más, como se ha comentado anteriormente, la coenzima Q10 también afecta a la efectividad del fenofibrato a la hora de corregir la dislipemia<sup>179</sup>. Por lo tanto, los resultados de los ensayos clínicos con fibratos podrían verse afectados por la suplementación que se haya usado:  $\beta$ -caroteno, coenzima Q10, etc.

#### *Metabolismo de la glucosa y sensibilidad insulínica*

En diversos estudios, en los que se usaron ratones modificados genéticamente, se ha mostrado también una acción ineficaz de los activadores del *PPAR*, como por ejemplo los realizados con ratones obesos diabéticos (*db/db*). En estos animales, el tratamiento con rosiglitazona o Wy-14,643 normalizaba la expresión de genes relacionados con la homeostasia glucídica, lipídica y con la activación local de glucocorticoides. Sin embargo, un gran

número de alteraciones de genes debidas a la diabetes permanecieron sin ser afectadas o incluso resultaron empeoradas por el tratamiento con los agonistas del *PPAR*. Así, la expresión alterada de muchos genes implicados en lipogénesis, y en el funcionamiento peroxisomal y mitocondrial, no mejoró con el tratamiento, lo cual indica que las alteraciones moleculares asociadas a la diabetes las corrigen los agonistas del *PPAR* tan sólo de forma parcial<sup>190</sup>. Por otra parte, en ratas Zucker, la administración de fenofibrato durante 4 semanas no modificó los valores de insulina en suero, mientras que rosiglitazona sí conseguía disminuir estos valores de forma acusada<sup>167</sup>.

Es bien sabida la complejidad del papel del *PPAR $\alpha$*  en la regulación de la sensibilidad a la insulina. En general, unos valores circulantes elevados de ácidos grasos y TG normalmente acompañan y/o inducen la resistencia a la insulina<sup>191</sup>. Algunos estudios han indicado un efecto beneficioso de la activación del *PPAR $\alpha$*  en la sensibilidad insulínica, tanto en ratas normales como en modelos de resistencia insulínica de origen nutricional (dieta rica en grasa), genético (ratas Zucker obesas), o bien de tipo lipoatrófico (ratones A-ZIP/F-1)<sup>143,192,193</sup>. En claro contraste con todo esto, la eliminación genética del *PPAR $\alpha$*  no tuvo efectos en la sensibilidad insulínica<sup>194</sup>. De este modo, ratones carentes de *PPAR $\alpha$*  alimentados con una dieta estándar no muestran signo alguno de resistencia insulínica, a pesar de presentar un aumento marcado en los FFA y TG circulantes<sup>191</sup>. Es más, se ha observado que los ratones carentes de *PPAR $\alpha$*  se encuentran protegidos de desarrollar resistencia insulínica tras recibir una dieta grasa o simplemente en el proceso de envejecimiento<sup>194</sup>. Por el contrario, otros autores que han empleado el método de pinzamiento euglicémico hiperinsulinémico han observado que la deficiencia de *PPAR $\alpha$*  no protege contra la resistencia insulínica inducida por una dieta grasa<sup>191</sup>. Es más, en otro estudio se observó que la activación farmacológica del *PPAR $\alpha$*  exclusivamente en el cerebro conseguía reducir la utilización de glucosa por otros tejidos, mientras que en ratones carentes de *PPAR $\alpha$*  la elevada utilización periférica de glucosa no disminuía por la reexpresión hepática del receptor<sup>195</sup>. Ello indicaría que el *PPAR $\alpha$*  participa realmente en la regulación de la sensibilidad insulínica, aunque lo realiza a través de mecanismos que no requieren la expresión hepática de *PPAR $\alpha$* <sup>195</sup>.

Los estudios en humanos de los efectos de los fibratos en la sensibilidad insulínica han mostrado que inducen mejoras o que no tienen efecto, aunque probablemente se deba a la heterogeneidad de los

individuos estudiados<sup>196</sup>. El factor predominante en pacientes obesos con síndrome metabólico es una elevación permanente de los FFA en plasma. De acuerdo con la hipótesis original de Randle et al<sup>197</sup>, el aumento en la disponibilidad de ácidos grasos por el músculo inhibe competitivamente la oxidación de glucosa, y provoca una disminución en la captación de glucosa y, así, resistencia insulínica. La activación del PPAR $\alpha$  favorece la oxidación de ácidos grasos, y es una de las razones por las que los fibratos ejercen una acción hipolipemiante y la causa de que los ligandos del PPAR $\alpha$  puedan, en algunas situaciones, mejorar la sensibilidad insulínica al reducir la acumulación de lípidos en los tejidos<sup>193</sup>. Sin embargo, sólo unos pocos estudios clínicos han descrito una mejoría en la homeostasia glucídica tras el tratamiento con fibratos<sup>198,199</sup>. Si bien los efectos beneficiosos de los fibratos en el control glucídico puede que no sean atribuibles totalmente al aumento en la oxidación de los ácidos grasos relacionado con la activación del PPAR $\alpha$ , ya que alguno de esos agentes es también capaz de activar ligeramente al PPAR $\gamma$ <sup>200</sup>. Por el contrario, el estudio clínico FIELD no reveló efecto alguno del fenofibrato en los parámetros glucídicos de pacientes diabéticos<sup>201</sup>. Es más, en un artículo reciente se concluye que la administración de fenofibrato durante 3 meses a pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2 no afectó a su sensibilidad insulínica<sup>202</sup>. Más aún, Subramanian et al<sup>203</sup> han descrito que la activación del PPAR $\alpha$  en individuos sanos no obesos no es capaz de revertir la resistencia insulínica inducida por la administración de glucocorticoides.

#### *Inflamación y efectos vasculares*

Aunque diversos estudios han mostrado las propiedades antiaterogénicas de los ligandos del PPAR $\alpha$  in vitro, los modelos en ratones muestran resultados contradictorios<sup>48</sup>. Aquí, de nuevo, la bibliografía muestra incongruencias entre los efectos de los agonistas del PPAR $\alpha$  y el fenotipo del ratón carente de PPAR $\alpha$ . Sorprendentemente, los ratones carentes de PPAR $\alpha$  y de apo E desarrollan menos lesiones ateroscleróticas cuando se alimentan con una dieta grasa que los ratones carentes tan sólo de apo E, lo que indica un papel aterogénico del PPAR $\alpha$ <sup>60,204</sup>. Estos ratones carentes de PPAR $\alpha$ /apo E muestran una concentración mayor de lipoproteínas aterogénicas y una presión sanguínea menor<sup>204</sup>. Esta menor presión sanguínea en los animales carentes de PPAR $\alpha$  puede contribuir a reducir el número de lesiones ateroscleróticas observadas en estos animales, a pesar de la presencia en ellos de valores elevados de lipoproteínas aterogénicas<sup>205</sup>.

Los efectos de los fibratos en la enfermedad vascular no están todavía dilucidados<sup>196</sup>. Algunos estudios han mostrado que el papel antiinflamatorio del PPAR $\alpha$  en la pared vascular parece ser dependiente de la gravedad de la inflamación o de la lesión vascular. Así, en ausencia de inflamación o en el estadio inicial de la lesión, los efectos del PPAR $\alpha$  son principalmente proaterogénicos<sup>206,207</sup>, mientras que el desarrollo de lesiones graves, acompañadas de inflamación, se ve reducido claramente por la activación del PPAR $\alpha$ . En ese sentido, aunque la expresión de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein*), una quimiocina que promueve la quimiotaxis de los monocitos, es claramente inhibida por los ligandos del PPAR $\gamma$ , el efecto de los activadores del PPAR $\alpha$  no está claro. Es más, se ha observado que en células endoteliales aórticas humanas, los ligandos naturales y sintéticos del PPAR $\alpha$  estimulan la síntesis de MCP-1<sup>206</sup>. Por el contrario, Pasceri et al<sup>208</sup> han encontrado que los fibratos reducen la expresión de MCP-1 inducida por la PCR en células endoteliales de vena umbilical humana. Además, como ya se ha comentado, el PPAR $\alpha$  participa en la inhibición de la síntesis de moléculas proinflamatorias, como interleucinas y prostaglandinas, mediante la disminución de la actividad del NF- $\kappa$ B<sup>209</sup>. Por el contrario, el tratamiento con agonistas del PPAR $\alpha$  incrementa la concentración del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), un agente proinflamatorio, inducido en plasma por LPS. Curiosamente, ese efecto es menor en ratones carentes de PPAR $\alpha$ <sup>210</sup>, lo que indica un papel proinflamatorio del PPAR $\alpha$ . Por el contrario, Poynter y Daynes<sup>209</sup> han observado que los esplenocitos de ratones carentes de PPAR $\alpha$  producen valores mayores de IL-6, lo que apoya una acción antiinflamatoria dependiente del PPAR $\alpha$ .

Otro potencial efecto inesperado del tratamiento con fibratos a través del PPAR $\alpha$  es un aumento en la homocisteína plasmática (un factor de riesgo emergente) en pacientes con dislipemia, que podría reducir además la producción hepática de apo A-I<sup>196</sup>. Aunque el aumento en la homocisteína puede contrarrestar el esperado efecto cardioprotector del fibrato, los datos del estudio Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS) apuntan a que el aumento en los valores de homocisteína observados tras el uso de fibratos no atenúan su efecto beneficioso en la aterosclerosis coronaria<sup>163</sup>.

#### **Soluciones farmacológicas y nutricionales**

El síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2 y la dislipemia asociada a este tipo de enfermedades son alteraciones cuya incidencia está aumen-

tando en todo el mundo. Por ende, muchos de estos pacientes no están recibiendo el tratamiento apropiado<sup>177,211</sup>. Por lo general, se ha aceptado el uso de fibratos, agonistas del PPAR $\alpha$ , como el tratamiento más prometedor<sup>212</sup>. Sin embargo, como ya se ha comentado, hay diversos estudios, tanto en animales como en humanos, que muestran que la activación del PPAR $\alpha$  puede tener efectos potencialmente adversos o que los fibratos pueden fallar, lo que hace muy necesaria la búsqueda de tratamientos complementarios o alternativos<sup>2,58</sup>. Además, los fibratos son agonistas débiles del PPAR $\alpha$ , por lo que son necesarias dosis elevadas de fármaco para un tratamiento efectivo. Todo ello hace suponer que agonistas del PPAR $\alpha$  más selectivos, con más potencia y especificidad, presentarán una efectividad mayor y menos efectos adversos. Estos tratamientos alternativos se están desarrollando actualmente, y aún no se ha establecido su utilidad<sup>2,18,213</sup>.

Por otra parte, cualquiera que sea el tratamiento mediado por PPAR $\alpha$  que se aplique, debería basarse en una comprensión mejor de la biología de los PPAR, de la naturaleza de los agonistas endógenos de PPAR, y de cómo se generan estas moléculas. Es más, cuando las rutas que sirven para producir los agonistas endógenos de PPAR fallan, puede que estén generando ligandos inadecuados para PPAR, que contribuirían a la aparición de situaciones patológicas<sup>58</sup>. Si éste fuera realmente el caso, una estrategia alternativa podría basarse en promover la producción de agonistas endógenos "apropiados" o en el diseño de agentes que pudieran competir y desplazar a los ligandos "inadecuados" en su unión al PPAR. De hecho, hay una hipótesis que propone que los agonistas del PPAR $\gamma$ , las TZD, actuarían mediante un mecanismo de ese tipo<sup>2,214</sup>.

#### *Agonistas duales del PPAR $\alpha/\gamma$ y PPAR $\alpha/\delta$ y panagonistas*

Los agonistas duales del PPAR se desarrollan con la idea de combinar la capacidad de los agonistas del PPAR $\alpha$  (fibratos) para reducir los valores de TG plasmáticos con la mejora de la sensibilidad insulínica que promueven los agonistas del PPAR $\gamma$  (TZD)<sup>215</sup>. De hecho, en modelos animales se ha demostrado que la combinación de fibratos y agentes sensibilizadores a la insulina produce, a través de mecanismos complementarios, una disminución en la resistencia insulínica, la glucemia y los valores de TG plasmáticos<sup>216</sup>, así como en la inflamación vascular<sup>217</sup>. Por lo tanto, es de suponer que un agente que simultáneamente active PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  será útil para el tratamiento de esas disfunciones del metabolismo<sup>215</sup>.

Los glitazars son agonistas duales de PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  que se están investigando en el tratamiento de la diabetes mellitus y el síndrome metabólico. Entre otros, están naveglitazar, muraglitazar, ragaglitazar, tesaglitazar y chiglitazar<sup>215,218</sup>. Todos ellos reducen los valores de TG y aumentan los de las HDL, con lo que se mejora la sensibilidad insulínica. Además, ragaglitazar, tesaglitazar y muraglitazar mejoran el metabolismo de ácidos grasos y lipoproteínas al disminuir los valores plasmáticos de apo B y apo C-III e inducir la actividad hepática de LPL y CPT-1<sup>213</sup>. Además, el tratamiento con ragaglitazar reduce de forma significativa la presión sanguínea en ratas espontáneamente hipertensas y mejora la función endotelial en ratas Zucker obesas cuando se compara con el tratamiento con pioglitazona<sup>219</sup>. Estudios farmacológicos in vivo en ratones controles (no obesos) y en diabéticos *db/db* demuestran que muraglitazar modula la expresión de genes diana de PPAR, y muestran una acción potente y eficaz como antidiabético y como agente hipolipemiente<sup>220</sup>. Debido a los excelentes hallazgos encontrados en modelos animales, se iniciaron diversos estudios clínicos en humanos. En un estudio clínico en fase III con pacientes con diabetes mellitus tipo 2, se comparó el tratamiento con muraglitazar frente a pioglitazona, ambos fármacos en combinación con metformina<sup>221</sup>. En comparación con el efecto de pioglitazona y metformina, el tratamiento con muraglitazar y metformina provocó una mejoría más evidente en el control glucémico, una reducción mayor en los TG plasmáticos y un incremento más acusado en las HDL plasmáticas. Sin embargo, el tratamiento con muraglitazar provocó un número mayor de muertes, infartos no fatales de miocardio o derrames cerebrales que en el caso de los pacientes tratados con pioglitazona o con placebo<sup>222</sup>. Aún más, en estudios clínicos se ha observado que el tratamiento con tesaglitazar eleva los valores en sangre de creatinina, lo que indica una potencial toxicidad renal. Por lo tanto, el uso de estos 2 prometedores compuestos se suspendió en mayo de 2006, y actualmente se están estudiando otras moléculas nuevas<sup>222</sup>.

Por otro lado, DRF 2519, un análogo de las TZD, también presenta activación dual de PPAR $\alpha$  y  $\gamma$ . En el modelo de ratón resistente a la insulina *ob/ob*, el DRF 2519 consiguió una mayor mejora de la resistencia insulínica y dislipemia que la rosiglitazona. En ratas Zucker obesas, el DRF 2519 mostró una reducción mayor de la insulina plasmática, y de los valores de TG y ácidos grasos, así como un aumento de la relajación de la musculatura lisa aórtica, en comparación con rosiglitazona<sup>223</sup>. En ratas

Sprague-Dawley alimentadas con una dieta grasa, el DRF 2519 mejoró el perfil lipídico plasmático de manera más clara que fenofibrato o rosiglitazona. Estos resultados indican que DRF 2519 podría ser un candidato interesante en el tratamiento de trastornos metabólicos y las complicaciones asociadas<sup>223</sup>. Otro nuevo agonista dual del PPAR $\alpha$ /PPAR $\gamma$  es LSN862, que mejora los valores de glucosa y de lípidos en modelos de roedores con diabetes mellitus tipo 2 y dislipemia. En ratas diabéticas Zucker obesas, el LSN862 mostró una eficacia mayor en reducir los valores de glucosa y TG que la rosiglitazona. Además, en ratones *db/db*, el LSN862 demostró una mejor eficacia antidiabética si se comparaba con rosiglitazona. En ratones transgénicos portadores de apo A-I humana, el LSN862 y el fenofibrato reducían los valores de VLDL, mientras que rosiglitazona los aumentaba<sup>224</sup>. Además, un nuevo agonista dual PPAR $\alpha$ / $\gamma$ , el (S)-3-(4-[2 carbazol-9-il-etoxi] fenil-2-etoxi-ácido propiónico), ha demostrado que produce una mejora en la sensibilidad insulínica<sup>225</sup>. Otros nuevos agonistas duales del PPAR $\alpha$ / $\gamma$ , que no son de tipo TZD y que se han desarrollado recientemente, son C333H y T33, los cuales presentan actividad sensibilizadora a la insulina e hipolipemiente<sup>226,227</sup>. Por otro lado, el MK-767 (KRP-297), a diferencia de otras TZD, activa no sólo al PPAR $\gamma$ , sino también al PPAR $\alpha$ <sup>228</sup>.

Actualmente, también se están desarrollando agonistas duales para PPAR $\alpha$  y PPAR $\delta$ . Es predecible que estos agonistas duales sean capaces de disminuir la hiperlipemia, resistencia insulínica y los factores de riesgo cardiovascular. Recientemente, se ha demostrado que el T659, un agonista dual del PPAR $\alpha$ / $\delta$ , producía un aumento en los valores de HDL en primates<sup>229</sup>. El interés de este hallazgo es que hay muy pocos agentes terapéuticos capaces de aumentar las concentraciones de cHDL en pacientes dislipémicos, ya que los fibratos tan sólo causan un incremento ligero en las concentraciones de cHDL, y las TZD, al igual que las estatinas, tienen poco o ningún efecto en el cHDL.

El bezafibrato es el más conocido de los panagonistas ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) de PPAR, con más de un cuarto de siglo de empleo terapéutico seguro. El bezafibrato mejora tanto la sensibilidad insulínica como el perfil lipídico plasmático en pacientes con síndrome metabólico<sup>230</sup>. Por lo tanto, los estudios clínicos basados en el bezafibrato apoyan el uso de ligandos pan-PPAR como agentes terapéuticos contra el síndrome metabólico. No obstante, ya que el bezafibrato es un ligando débil de PPAR, se deberían desarrollar nuevos compuestos pan-PPAR más poderosos para el tratamiento de enfermedades en

las que coexistan alteraciones del metabolismo lipídico y glucídico<sup>231</sup>. En este sentido, netoglitazona y PLX 204 son nuevos ligandos panagonistas que se encuentran actualmente en investigación. En un futuro próximo, esos ligandos podrían ser potentes agentes terapéuticos para el tratamiento de diabetes asociada con complicaciones cardiovasculares<sup>215,232</sup>. De hecho, los panagonistas del PPAR han mostrado su actividad antidiabética sin la ganancia de peso que sí se observa con el uso de agonistas del PPAR $\gamma$ <sup>215</sup>. De este modo, netoglitazona producía una disminución de los valores plasmáticos de ácidos grasos, glucosa y TG, así como un aumento en la sensibilidad insulínica en ratas obesas y diabéticas<sup>233</sup>. No obstante, debido a los potenciales múltiples sitios de acción de los pan-PPAR, que afectarían a la transcripción de una gran cantidad de genes diferentes, resulta imprescindible una información más amplia con respecto a su toxicidad en humanos<sup>215</sup>.

#### *Moduladores selectivos de PPAR (SPPARM) y agonistas parciales*

El concepto de moduladores selectivos de PPAR (SPPARM) fue sugerido por analogía con el término de moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), a partir de que cada ligando diferente puede tener propiedades agonistas o antagonistas distintas, dependiendo del contexto celular y del gen diana específico de que se trate. Los ligandos del PPAR con diferentes estructuras químicas (SPPARM) se unen al LBD del receptor, e inducen cambios conformacionales distintos que conllevan diferentes afinidades de unión para los diversos cofactores y que, por tanto, activan al PPAR de distintas maneras, provocando efectos diferenciales en la expresión génica y en las respuestas biológicas. No obstante, debemos tener en mente que, a diferencia de otros receptores clásicos de hormonas esteroideas, los receptores PPAR tienen un gran bolsillo de unión al ligando, que no se rellena completamente con el ligando<sup>234</sup>. Según esto, la hipótesis de trabajo es que la mejor estrategia terapéutica sería conseguir una acción beneficiosa mediada por el PPAR en un tipo celular, sin inducir un efecto adverso mediado también por el PPAR, en otro<sup>46</sup>. La gran mayoría de los SPPARM desarrollados hasta la fecha actúan en el PPAR $\gamma$  y han demostrado que modifican selectivamente la expresión génica, así como reducen la resistencia insulínica sin causar ganancia de peso<sup>215</sup>. Así, en ratones diabéticos, metaglidase disminuye las concentraciones de insulina y glucosa, aumenta la concentración de adiponectina y mejora el perfil lipídico

plasmático sin modificar el peso<sup>215</sup>. El FK614 es un SPPARM con propiedades diferenciales en la regulación del funcionamiento de la célula grasa. Este compuesto se comporta como agonista parcial cuando induce al PPAR $\gamma$  a interactuar con los coactivadores CBP y SRC-1, pero actúa como agonista total con PBP y PRIP, que se requieren para la adipogénesis mediada por PPAR $\gamma$ . Por tanto, el FK614 induce la expresión del ARNm para aP2 y la acumulación de TG en adipocitos 3T3-L1 que se estén diferenciando, pero no así en adipocitos maduros, mientras que las TZD producen esos mismos efectos en los 2 estadios de diferenciación de los adipocitos. Es por ello que, dado que FK614 se comporta como un SPPARM con una selectividad dependiente del estadio de diferenciación celular, podría disminuir la resistencia insulínica, sin estimular la acumulación de grasa en los adipocitos<sup>235</sup>. Por otro lado, el gemfibrocilo, un agonista clásico del PPAR $\alpha$ , recientemente se ha considerado como un SPPARM<sup>43</sup>. Ello estaría en consonancia con el hecho de que el gemfibrocilo es estructuralmente único en comparación con el resto de fibratos<sup>236</sup>. De ese modo, mientras el fenofibrato se comporta como un agonista total, el gemfibrocilo actuaría como un modulador selectivo del PPAR $\alpha$ , induciendo una selección diferente de los coactivadores por el complejo PPAR $\alpha$ :RXR-ADN, según el PPRE de que se trate<sup>43</sup>. Cada posible interacción diferente entre el PPAR $\alpha$  y sus cofactores generaría señales distintas que producirían una actividad reguladora "característica" de la expresión de genes<sup>66</sup>. Estas observaciones podrían explicar las diferencias encontradas entre fenofibrato y gemfibrocilo en el efecto que ejercen en la expresión y los valores plasmáticos de apo A-I<sup>43</sup>.

Es de reseñar que Feige et al<sup>237</sup> han establecido claramente la diferencia entre moduladores selectivos del PPAR y los agonistas parciales de PPAR, 2 términos que con demasiada frecuencia se intercambian<sup>43,215</sup>. Los SPPARM inducen cambios conformacionales distintos a los de los agonistas totales y provocan una inducción selectiva de la selección de correguladores, de la activación de genes diana y de los efectos fisiológicos. Realmente, los SPPARM difieren de los agonistas parciales en que promueven la regulación selectiva de genes a través de la diferente modulación de la transcripción de los genes diana, específica para cada gen. De este modo, algunos genes son inducidos a valores similares a los observados con agonistas totales, mientras que otros muestran una activación más limitada. Por contra, los agonistas parciales provocan una activación global de todos los genes

diana, más reducida que la producida por los agonistas totales<sup>237</sup>.

### Otros tratamientos farmacológicos

La represión del PPAR es y ha sido también un campo de estudio en el desarrollo de tratamientos hipolipemiantes, antidiabéticos y antiinflamatorios. Ello proviene de la hipótesis de que muchos ligandos sintéticos de PPAR $\gamma$  no son puros activadores de PPAR $\gamma$ , sino que, más bien, actúan como agonistas parciales. De hecho, se ha propuesto que estas moléculas competirían con ligandos endógenos, los cuales sí que se comportarían como agonistas puros, por unirse al PPAR. Así pues, las TZD son capaces de incrementar la sensibilización a la insulina mediante el desplazamiento de ligandos endógenos del PPAR $\gamma$ , que estarían afectando negativamente a genes glucorreguladores clave y a la acción de la insulina<sup>214</sup>. Por lo tanto, revertiendo esta represión con un agonista parcial del tipo TZD, se estaría aumentando la sensibilidad a la insulina. De hecho, ese efecto se ha comprobado en los ratones heterocigotos PPAR $\gamma$ +/-, con la reducción de la presencia del propio receptor PPAR $\gamma$ <sup>214</sup>. No obstante, la acción de los TZD más aceptada es que inducen la activación del PPAR $\gamma$ , por lo que los TZD se consideran, por lo general, agonistas de PPAR $\gamma$ . Por contra, el compuesto SR-202 sí que se ha identificado como antagonista del PPAR $\gamma$ . Curiosamente, tanto SR-202 como TZD protegen de la resistencia a la insulina inducida por una dieta grasa en modelos animales, lo que indica que los agonistas y antagonistas de PPAR $\gamma$  tienen efectos similares en roedores. Sin embargo, al contrario que las TZD, SR-202 reduce la adipogénesis y previene la aparición de obesidad<sup>238</sup>.

Sin embargo, para el caso del PPAR $\alpha$  no se cumple este comportamiento, ya que se ha observado que el antagonismo en el PPAR $\alpha$  produce efectos similares a los descritos cuando se inhibe al PPAR $\alpha$ , es decir, fallos en la regulación del metabolismo lipídico y lipoproteico<sup>239</sup>.

Por otra parte, los ligandos para RXR (rexinoides) se han considerado también como posibles agentes terapéuticos para usarlos en enfermedades metabólicas. Un heterodímero compuesto por RXR y PPAR puede ser activado por un ligando del RXR, independientemente de si está o no presente el ligando para el PPAR. Es más, los homodímeros de RXR pueden unirse también a PPRE funcionales e inducir la transactivación, tanto en presencia como en ausencia de PPAR<sup>240</sup>. De hecho, los ligandos sintéticos de tipo rexinoides, como la targretina (LGD1069), pueden activar genes que contengan

un PPRE en su promotor de una manera independiente de la formación del complejo PPAR-RXR<sup>241</sup>. Así, en ratón, los rexinoides han mostrado efectos antidiabéticos<sup>242</sup>, pero, por contra, también incrementaron los valores de TG circulantes<sup>243</sup> e interfirieron en la ruta de señalización del TR, provocando un intenso hipotiroidismo<sup>244</sup>.

Una combinación de agentes hipolipemiantes, que se ha usado en pacientes dislipémicos con respuesta baja a la monoterapia, ha sido la de fibratos con el ácido nicotínico (niacina), el cual, a pesar de su modesto efecto incrementando la glucemia, muestra efectos beneficiosos en los tradicionales parámetros lipídicos y fracciones lipoproteicas en sangre, y produce una reducción importante en los episodios cardiovasculares. Posiblemente, los efectos beneficiosos observados en los valores de FFA se deban a la inhibición que ejerce la niacina en la lipólisis del tejido adiposo<sup>245,246</sup>. Así por ejemplo, la niacina se ha combinado con el clofibrato en una molécula, el etofibrato, que ha demostrado tener efectos hipolipemiantes tanto en animales<sup>247</sup>, como en personas<sup>248</sup>.

#### *Nutracéutica*

Los cambios inducidos por la dieta en los valores circulantes de ácidos grasos insaturados pueden ser suficientes para modificar de una forma apreciable la actividad del PPAR<sup>18</sup>. Además, el ácido eicosapentanoico y el docosahexanoico, ligandos naturales del PPAR $\alpha$  se pueden encontrar frecuentemente en los suplementos de aceite de pescado o de  $\omega$ -3, que se pueden adquirir sin receta<sup>215</sup>. Es interesante señalar que los PUFA, especialmente los de la clase  $\omega$ -3, pueden afectar a todos los receptores nucleares que regulan los valores de TG, esto es, LXR, HNF-4 $\alpha$  y los 3 subtipos de PPAR<sup>249</sup>, lo que explicaría su eficiente efecto hipotriacilglicerolemiante. Los ácidos grasos  $\omega$ -3 son activadores de PPAR $\alpha$  más potentes que los de la serie  $\omega$ -6, pero ninguno de los 2 tipos de ácidos grasos son realmente activadores potentes de PPAR $\alpha$ . Por el contrario, sus derivados de tipo eicosanoide, o bien los ácidos grasos oxidados, tienen una gran afinidad por el PPAR $\alpha$  y son activadores potentes tanto de la isoforma alfa como de la gamma<sup>250,251</sup>.

El ácido linoleico conjugado (CLA) se encuentra de forma natural en tejidos animales y en la dieta, así como también en carnes de rumiantes, de aves de corral, en huevos y en productos lácteos. Aunque los mecanismos de acción de CLA no están completamente claros, se ha propuesto que la activación del PPAR $\alpha$  y/o PPAR $\gamma$  puede contribuir, al menos en parte, en los efectos beneficiosos de CLA

en aterogenia, diabetes y la función inmunitaria, que se han observado en diversos estudios animales<sup>252,253</sup>.

Las amidas de los ácidos grasos con etanolamina (FAE) se producen de forma natural en las células de mamíferos a través de la acción concertada de 2 enzimas. Los FAE son una familia de lípidos de origen natural que son mediadores activos, están presentes en tejidos y en sangre, y participan en diversas funciones biológicas, como son la regulación del apetito<sup>254</sup> y la mejora de la función cardíaca en condiciones de cardiomiopatía<sup>255</sup>. Generalmente, actúan a través de la activación de proteínas G acopladas a receptores de cannabinoides. Sin embargo, se ha demostrado que la FAE que porta ácido oleico, llamada oleiletanolamida (OEA), estimula la actividad lipolítica del tejido adiposo y la oxidación hepática de ácidos grasos mediante un mecanismo independiente de los receptores de cannabinoides, y que implica la activación del PPAR $\alpha$ <sup>256</sup>.

La disminución en la expresión del PPAR $\alpha$  podría contribuir al estado prooxidante que se observa en animales envejecidos, y que posiblemente es causado por una deficiente modulación del estado redox celular. Así, se ha observado que los ratones viejos expresan valores reducidos de los ARNm para PPAR $\alpha$  y sus genes diana, como ACO peroxisómica. De manera recíproca, ese estado prooxidante podría ser causado por la expresión reducida del PPAR $\alpha$  encontrada en ratas viejas<sup>165</sup>. De acuerdo con ello, en ratones viejos se ha constatado que la suplementación con vitamina E provoca un aumento en los ARN transcritos de PPAR $\alpha$  y ACO, alcanzando los valores observados en animales jóvenes<sup>209</sup>. Ello indicaría que, si se equilibra de forma adecuada el estado redox celular, se puede actuar de forma positiva en la regulación transcripcional del PPAR $\alpha$ . Además, dado que algunos de los efectos adversos de la acción del PPAR $\alpha$  parecen deberse a los compuestos generados en el metabolismo de oxidación de los ácidos grasos<sup>257</sup>, la coadministración de un tratamiento antioxidante, como la vitamina E, junto con ligandos del PPAR, podría aliviar o prevenir los efectos secundarios de los agonistas del PPAR<sup>46</sup>.

Hay algunos estudios acerca de la actividad biológica de las isohumulonas encontradas en la cerveza, y en algunos de ellos se ha descrito que estos compuestos pueden activar a PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ <sup>258</sup>. Es más, se ha propuesto que las isohumulonas mejoran la resistencia insulínica en ratones diabéticos mediante el aumento de la expresión del PPAR $\gamma$ <sup>258</sup>, mientras que el aumento en los valores plasmáticos de cHDL y la reducción de la concentración de co-

lesterol y de TG en hígado de ratón podría deberse al aumento que inducen en la expresión del PPAR $\alpha$ <sup>259</sup>. Un mecanismo similar podría explicar el efecto de las isohumulonas en la prevención de la obesidad inducida por la dieta en ratones<sup>260</sup>.

En diversos estudios epidemiológicos y nutricionales realizados en humanos y en animales, se ha indicado que el consumo de proteína de soja reduce los valores plasmáticos de colesterol total, cLDL y TG, así como el contenido hepático de colesterol y TG<sup>261</sup>. La proteína de soja es única entre todas las proteínas de origen vegetal, porque se asocia con isoflavonas<sup>262</sup>. Así, Mezei et al<sup>263</sup>, usando ratones carentes de PPAR $\alpha$  alimentados con dietas que contenían diferentes cantidades de isoflavonas de soja, determinaron que la mejoría significativa observada en los valores de TG plasmáticos se debía a la ingesta de las isoflavonas de la soja y que se producía a través de mecanismos tanto dependientes como independientes del PPAR $\alpha$ . Curiosamente, la estructura química de las isoflavonas es similar a la de los fibratos<sup>264</sup>. De hecho, estudios in vitro han mostrado que las isoflavonas de la soja, particularmente genisteína y daidzeína, son capaces de activar tanto PPAR $\alpha$  como PPAR $\gamma$ <sup>265</sup>. En cultivos celulares, se ha demostrado que tanto los extractos de soja que contienen isoflavonas, como las isoflavonas de soja por separado, son capaces de incrementar la expresión de genes diana de PPAR<sup>262</sup>. Por otro lado, Mezei et al<sup>265</sup> mostraron que el consumo de proteína de soja rica en isoflavonas mejora la tolerancia a la glucosa, la resistencia a la insulina y las concentraciones de colesterol y TG hepáticos en ratas Zucker obesas.

Como se ha comentado anteriormente, el heterodímero compuesto por RXR y PPAR puede ser activado por el ligando del RXR, ácido 9-cis retinoico, independientemente de la presencia o ausencia de un ligando para PPAR. El ácido retinoico puede formarse mediante la ruptura simétrica del  $\beta$ -caroteno. No obstante, el  $\beta$ -caroteno se puede también escindir de manera asimétrica y originar una serie de moléculas conocidas como apocarotenales. Recientemente se ha hipotetizado con la idea de que los apocarotenales, como el ácido 9-cis retinoico, podrían actuar como moduladores de la transcripción. Así, diversos estudios han revelado que el  $\beta$ -apo-14' carotenal (apo14) es capaz de inhibir la activación de PPAR $\alpha$  y RXR producida por sus respectivos agonistas. Entonces, un posible papel del apo14 podría ser modular la activación del PPAR $\alpha$ <sup>58</sup>.

Finalmente, se ha observado que compuestos polifenólicos, como el resveratrol y sus análogos, que se encuentran en uvas, vino y cacahuetes, pueden actuar como hipolipemiantes e hipoglucemian-

tes actuando a través del PPAR $\alpha$ <sup>266</sup>. Rimando et al<sup>266</sup> han investigado si este compuesto y sus 3 análogos (pterostilbeno, piceatannol y resveratrol trimetil éter) podrían activar al PPAR $\alpha$  in vivo e in vitro. Así, se ha constatado que el pterostilbeno presentaba la máxima inducción del PPAR $\alpha$  de los 4 compuestos. De acuerdo con esto, en hámsters hipercolesterolémicos, el pterostilbeno disminuyó los valores plasmáticos de cLDL y glucosa, y aumentó los valores plasmáticos de cHDL, cuando se comparó con el grupo control.

## Conclusiones

Son necesarios, de manera urgente, fármacos efectivos y bien tolerados para controlar la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus tipo 2 y, en definitiva, el síndrome metabólico. Para conseguirlo, se necesitan más estudios y ensayos clínicos que ayuden a completar nuestro conocimiento sobre cómo el PPAR $\alpha$  modula de forma intracelular y extracelular las rutas metabólicas glucídicas y lipídicas, y cómo regula las actividades inflamatorias vascular y hepática. Es más, hay numerosos efectos pleiotrópicos de los fibratos que participan en la acción beneficiosa de los agonistas del PPAR $\alpha$  en la dislipemia, más allá del impacto positivo que estos agentes puedan tener en el metabolismo lipídico y lipoproteico. Estos y otros efectos de los agonistas del PPAR $\alpha$  que están por develar podrán ayudarnos a conseguir mejorar su efectividad y a desarrollar nuevas moléculas que puedan usarse como tratamiento en el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2 y la dislipemia.

## Agradecimientos

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Sra. Milagros Morante por su excelente ayuda técnica.

## Bibliografía

1. Michalik L, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: three isotypes for a multitude of functions. *Curr Opin Biotechnol.* 1999;10:564-70.
2. González M, Panadero MI, Herrera E, Bocos C. PPAR $\alpha$  as target for pharmacological and nutritional agents affecting lipid metabolism. En: Vázquez Carrera M, Laguna JC, editors. *New emerging pharmacological target in metabolic diseases.* Kerala, India: Transworld Research Network; 2007. p. 71-118.
3. Chinetti-Gbaguidi G, Fruchart JC, Staels B. Pleiotropic effects of fibrates. *Curr Atheroscler Rep.* 2005;7:396-401.
4. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferator. *Nature.* 1990;347:645-50.
5. Giguere V, Hollenberg SM, Rosenfeld MG, Evans RM. Functional domains of the human glucocorticoid receptor. *Cell.* 1986;46:645-52.



6. Gearing KL, Göttlicher M, Teboul L, Widmark E, Gustafsson JA. Interaction of the peroxisome-proliferator-activated receptor and retinoid X-receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:1440-4.
7. Gray J, Burns K, Leas T, Perdew G, Vanden Heuvel J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha by protein kinase C. *Biochemistry*. 2005;44:10313-21.
8. Lemberger T, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor: A nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1996;12:335-63.
9. Sumanasekera W, Tien E, Davis J, Turpey R, Perdew G, Vanden Heuvel JP. Heat shock protein-90 (Hsp90) acts as a repressor of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPARalpha) and PPARbeta activity. *Biochemistry*. 2003;42:10726-35.
10. Dreyer C, Krey G, Keller H, Givel F, Helftenbein G, Wahli W. Control of the peroxisomal  $\beta$ -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell*. 1992;68:879-87.
11. Lemberger T, Braissant O, Juge-Aubry C, Keller H, Saladin R, Staels B, et al. PPAR tissue distribution and interactions with other hormone-signaling pathways. *Ann N Y Acad Sci*. 1996;804:231-51.
12. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\delta$ . *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:4312-7.
13. Delerive P, Furman C, Teissier E, Fruchart JC, Dubois G, Duriez P, et al. Oxidized phospholipids activate PPAR $\alpha$  in a phospholipase A2-dependent manner. *FEBS Letters*. 2000;471:34-8.
14. Lehmann J, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for receptor proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). *J Biol Chem*. 1995;270:12953-6.
15. Willson TM, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Curr Opin Chem Biol*. 1997;1:235-41.
16. Lehmann J, Lenhard JM, Oliver BB, Ringold GM, Kliewer SA. Peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$  are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem*. 1997;272:3406-10.
17. Keller H, Dreyer C, Medin J, Mahfoudi A, Ozato K, Wahli W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:2160-4.
18. Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Drug insight: mechanism of action and therapeutic applications for agonists of peroxisome proliferator-activated receptors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3:145-56.
19. Desvergne B, Michalik L, Wahli W. Transcriptional regulation of metabolism. *Physiol Rev*. 2006;86:465-514.
20. Struhl K. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev*. 1998;12:6969-78.
21. Martínez-Balbas MA, Bannister AJ, Martin K, Haus-Seuffert P, Meisterernst M, Kouzarides T. The acetyltransferase activity of CBP stimulates transcription. *EMBO J*. 1998;17:2886-93.
22. Zhu Y, Qi C, Jain Y, Rao MS, Reddy JK. Isolation and characterization of PBP, a protein that interacts with peroxisome proliferator-activated receptor. *J Biol Chem*. 1997;272:25500-6.
23. Pazin MJ, Kadonaga JT. What's up and down with histone deacetylation and transcription? *Cell*. 1997;89:325-8.
24. Chen JD, Evans RM. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. *Nature*. 1995;377:454-7.
25. Xu L, Glass CK, Rosenfeld MG. Coactivator and corepressor complexes in nuclear receptor function. *Curr Opin Genet Dev*. 1999;9:140-7.
26. Nolte RT, Wisely GB, Westin S, Cobb JE, Lambert MH, Kurokawa R, et al. Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Nature*. 1998;395:137-43.
27. Devchand PR, Keller H, Peters JM, Vázquez M, González FJ, Wahli W. The PPAR $\alpha$ -leukotriene B $_4$  pathway to inflammation control. *Nature*. 1996;384:39-43.
28. Marx N, Schönbeck U, Mitchell A, Lazar A, Libby P, Plutzky J. Peroxisome proliferator activated receptor gamma activator inhibit gene expression and migration in human vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 1998;83:1097-103.
29. Duval C, Müller M, Kersten S. PPAR $\alpha$  and dyslipidemia. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1771:961-71.
30. Ricote M, Glass CK. PPAR and molecular mechanisms of trans-repression. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1771:926-35.
31. Delerive P, Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Induction of Ikappa-B $\alpha$  expression as a mechanism contributing to the anti-inflammatory activities of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activators. *J Biol Chem*. 2000;275:36703-7.
32. Delerive P, de Bosscher K, Vanden Berghe W, Fruchart JC, Haegeman G, Staels B. DNA binding-independent induction of Ikappa-B $\alpha$  gene transcription by PPAR $\alpha$ . *Mol Endocrinol*. 2002;16:1029-39.
33. Shin M, Kim I, Inoue Y, Kimura S, González FJ. Regulation of mouse hepatic alpha-amino-beta-carboxymuconate-epsilon-semialdehyde decarboxylase, a key enzyme in the tryptophan-nicotinamide adenine dinucleotide pathway, by hepatocyte nuclear factor 4alpha and peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Mol Pharmacol*. 2006;70:1281-90.
34. Gervois P, Vu-Dac N, Kleemann R, Kockx M, Dubois G, Laine B, et al. Negative regulation of human fibrinogen gene expression by peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists via inhibition of CCAAT box/enhancer-binding protein beta. *J Biol Chem*. 2001;276:33471-7.
35. Lemberger T, Staels B, Saladin R, Desvergne B, Auwerx J, Wahli W. Regulation of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  gene by glucocorticoids. *J Biol Chem*. 1994;269:24527-30.
36. Yamada J, Sugiyama H, Watanabe T, Suga T. Suppressive effect of growth hormone on the expression of peroxisome proliferator-activated receptor in cultures rat hepatocytes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1995;90:173-6.
37. Panadero M, Vidal H, Herrera E, Bocos C. Nutritionally induced changes in the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha gene expression in liver of suckling rats are dependent on insulinemia. *Arch Biochem Biophys*. 2001;394:182-8.
38. Soria A, González MC, Vidal H, Herrera E, Bocos C. Triglyceridemia and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha expression are not connected in fenofibrate-treated pregnant rats. *Mol Cell Biochem*. 2005;273:97-107.
39. Sterchele PF, Sun H, Peterson RE, Vanden Heuvel JP. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha mRNA in rat liver. *Arch Biochem Biophys*. 1996;15:281-9.
40. Steineger HH, Sorensen HN, Tugwood JD, Skrede A, Spydevold O, Gautvik KM. Dexamethasone and insulin demonstrate marked and opposite regulation of the steady-state mRNA level of the peroxisomal proliferator-activated receptor (PPAR) in hepatic cells. Hormonal modulation of fatty-acid induced transcription. *Eur J Biochem*. 1994;225:967-74.
41. Panadero M, Herrera E, Bocos C. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha expression in rat liver during postnatal development. *Biochimie*. 2000;82:723-6.
42. Valmaseda A, Carmona MC, Barberá MJ, Viñas O, Mampel T, Iglesias R, et al. Opposite regulation of PPAR- $\alpha$  and  $\gamma$  gene expression by both their ligands and retinoic acids in brown adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*. 1999;154:101-9.
43. Duez H, Lefebvre AM, Poulain P, Torra JP, Percevault F, Luc G, et al. Regulation of human apoA-I by gemfibrozil and fenofibrate through selective peroxisome proliferator-activated receptor alpha modulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:585-91.
44. Holden PR, Tugwood JD. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha: role in rodent liver cancer and species differences. *J Mol Endocrinol*. 1999;22:1-8.
45. Panadero MI, Herrera E, Bocos C. Different sensitivity of PPAR $\alpha$  gene expression to nutritional changes in liver of suckling and adult rats. *Life Sci*. 2005;76:1061-72.
46. Vamecq J, Latruffe N. Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. *Lancet*. 1999;354:141-8.
47. Palmer A, Hsu M, Griffin K, Raucy J, Johnson E. Peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$  expression in human liver. *Mol Pharmacol*. 1998;53:14-22.
48. Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Sorting out the roles of PPAR alpha in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest*. 2006;116:571-80.

49. Finck BN, Lehman JJ, Leone TC, Welch MJ, Bennett MJ, Kovacs A, et al. The cardiac phenotype induced by PPAR $\alpha$  overexpression mimics that caused by diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 2002;109:121-30.
50. Blaschke F, Takata Y, Caglayan E, Law RL, Hsueh WA. Obesity, peroxisome proliferator-activated receptor, and atherosclerosis in type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:28-40.
51. Lillycrop KA, Phillips ES, Jacson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr.* 2005;135:1382-6.
52. Wu G, Bazer FW, Cudd TA, Meininger CJ, Spencer TE. Maternal nutrition and fetal development. *J Nutr.* 2004;134:2169-72.
53. Pogribny IP, Tryndyak VP, Woods CG, Witt SE, Rusyn I. Epigenetic effects of the continuous exposure to peroxisome proliferator WY-14,643 in mouse liver are dependent upon peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ . *Mutation Research.* 2007;625:62-71.
54. Huang Q, Alvares K, Bradfield CA, Reddy JK. Association of peroxisome proliferator-activated receptor and Hsp72. *J Biol Chem.* 1994;269:8493-7.
55. Rodríguez C, Noé V, Cabrero A, Ciudad CJ, Laguna JC. Differences in the formation of PPAR $\alpha$ -RXR/acoPPRE complexes between responsive and nonresponsive species upon fibrate administration. *Mol Pharmacol.* 2000;58:185-93.
56. Blanquart C, Barbier O, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) turnover by the ubiquitin-proteasome system controls the ligand-induced expression level of its target genes. *J Biol Chem.* 2002;277:37254-9.
57. Blanquart C, Mansouri R, Fruchart JC, Staels B, Glineur C. Different ways to regulate the PPAR  $\alpha$  stability. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;319:663-70.
58. Ahmed W, Ziouzenkova O, Brown J, Devchand P, Francis S, Kadakia M, et al. PPARs and their metabolic modulation: new mechanisms for transcriptional regulation? *J Intern Med.* 2007;262:184-98.
59. Ziouzenkova O, Perrey S, Asatryan L, Hwang J, MacNaul KL, Moller DE, et al. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins generates PPAR ligands: evidence for an antiinflammatory role for lipoprotein lipase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:2730-5.
60. Li AC, Glass CK. PPAR- and LXR-dependent pathways controlling lipid metabolism and the development of atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2004;45:2161-73.
61. Chakravarthy MV, Pan Z, Zhu Y, Tordjman K, Schneider JG, Coleman T, et al. "New" hepatic fat activates PPAR $\alpha$  to maintain glucose, lipid, and cholesterol homeostasis. *Cell Metabol.* 2005;1:309-22.
62. Bocos C, Gottlicher M, Gearing K, Banner C, Enmark E, Teboul M, et al. Fatty acid activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;53:467-73.
63. Wolfrum C, Borrmann CM, Borchers T, Spener F. Fatty acids and hypolipidemic drugs regulate peroxisome proliferator  $\alpha$  and  $\gamma$  mediated gene expression via liver fatty acid binding protein: A signaling path to the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:2323-8.
64. Michalik L, Wahli W. Guiding ligands to nuclear receptors. *Cell.* 2007;129:723-33.
65. Schug TT, Berry DC, Shaw NS, Travis SN, Noy N. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors. *Cell.* 2007;129:649-51.
66. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med.* 2002;53:409-35.
67. Xu Y, Lu L, Greyson C, Rizeq M, Nunley K, Wyatt B, et al. The PPAR- $\alpha$  activator fenofibrate fails to provide myocardial protection in ischemia and reperfusion in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290:1798-807.
68. Akbiyik F, Ray DM, Bozkaya H, Demirpence E. Ligand- and species-dependent activation of PPAR $\alpha$ . *Cell Physiol Biochem.* 2004;14:269-76.
69. Soria A, Bocos C, Herrera E. Opposite metabolic response to fenofibrate treatment in the pregnant and virgin rats. *J Lipid Res.* 2002;43:74-81.
70. Duplus E, Glorian M, Forest C. Fatty acid regulation of gene transcription. *J Biol Chem.* 2000;275:30749-52.
71. Baes MI, Castelein H, Desmet L, Declercq PE. Antagonism of COUP-TF and PPAR  $\alpha$ /RXR  $\alpha$  on the activation of the malic enzyme gene promoter: modulation by 9-cisRA. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;215:338-45.
72. Winrow CJ, Marcus SL, Miyata KS, Zhang B, Capone JP, Rachubinski RA. Transactivation of the peroxisome proliferator-activated receptor is differentially modulated by hepatocyte nuclear factor-4. *Gene Expr.* 1994;4:53-62.
73. Vu-Dac N, Gervois P, Jakel H, Nowak M, Baugé E, Dehondt H, et al. Apolipoprotein A5, a crucial determinant of plasma triglyceride levels, is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activators. *J Biol Chem.* 2003;278:17982-5.
74. Ammerschlaeger M, Beigal J, Klein KU, Mueller SO. Characterization of the species-specificity of peroxisome proliferators in rat and human hepatocytes. *Toxicol Sci.* 2004;78:229-40.
75. Cheung C, Akiyama TE, Ward JM, Nicol CJ, Feiganbaum L, Vinson C, et al. Diminished hepatocellular proliferation in mice humanized from the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ . *Cancer Res.* 2004;64:3849-54.
76. Mukherjee R, Jow L, Noonan D, McDonnell DP. Human and rat peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) demonstrate similar tissue distribution but different responsiveness to PPAR activator. *J Steroid Biochem Molec Biol.* 1994;51:157-66.
77. Hsu MH, Palmer CN, Griffin KJ, Johnson EF. A single amino acid change in the mouse peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  alters transcriptional responses to peroxisome proliferators. *Mol Pharmacol.* 1995;48:559-67.
78. Jow L, Mukherjee R. The human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) subtype NUC1 represses the activation of hPPAR $\alpha$  and thyroid hormone receptors. *J Biol Chem.* 1995;270:3836-40.
79. Muoio DM, MacLean PS, Lang DB, Li S, Houmard JA, Way JM, et al. Fatty acid homeostasis and induction of lipid regulatory genes in skeletal muscles of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  knock-out mice. Evidence for compensatory regulation by PPAR  $\delta$ . *J Biol Chem.* 2002;277:26089-97.
80. Thomas J, Bramlett KS, Monstrose C, Foxworthy P, Eacho PI, McCann D, et al. A chemical switch regulates fibrate specificity for peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) versus liver X receptor. *J Biol Chem.* 2003;278:2403-10.
81. Keller H, Givel F, Perroud M, Wahli W. Signaling cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor/retinoid X receptor and estrogen receptor through estrogen response elements. *Mol Endocrinol.* 1995;9:794-804.
82. Jeong S, Kim M, Han M, Lee H, Ahn J, Kim M, et al. Fenofibrate prevents obesity and hypertriglyceridemia in low-density lipoprotein receptor-null mice. *Metabolism.* 2004;53:607-13.
83. Jeong S, Yoon M. Inhibition of the actions of peroxisome proliferator-activated receptor [alpha] on obesity by estrogen. *Obesity (Silver Spring).* 2007;15:1430-40.
84. Álvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasunción MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res.* 1996;37:299-308.
85. Corton JC, Bocos C, Moreno ES, Merrit A, Cattley RC, Gustafsson JA. Peroxisome proliferator alter the expression of estrogen-metabolizing enzymes. *Biochimie.* 1997;79:151-62.
86. Djouadi F, Weinheimer CJ, Saffitz JE, Pitchford C, Bastin J, González FJ. A gender-related defect in lipid metabolism and glucose homeostasis in peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ -deficient mice. *J Clin Invest.* 1998;102:1083-91.
87. López-Pérez IC, Relano E, Herrera E, Bocos C. Estudio del mecanismo de acción hipolipemiente de la lovastatina en la rata. *Clin Invest Arterioscler.* 2003;15:248-57.
88. Roglans N, Sanguino E, Peris C, Alegret M, Vázquez M, Adzet T, et al. Atorvastatin treatment induced peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  expression and decreased plasma nonesterified fatty acids and liver triglyceride in fructose-fed rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;302:232-9.

89. Sanguino E, Roglans N, Alegret M, Sánchez RM, Vázquez-Carretera M, Laguna JC. Atorvastatin reverses age-related reduction in rat hepatic PPAR $\alpha$  and HNF-4. *Br J Pharmacol.* 2005;145:853-61.
90. Wong JS, Gill SS. Gene expression changes induced in mouse liver by di(2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002;185:180-96.
91. Corton JC, Bocos C, Moreno ES, Merrit A, Marsman DS, Sausen PJ, et al. Rat 17  $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type IV is a novel peroxisome proliferator-inducible gene. *Mol Pharmacol.* 1996;50:1157-66.
92. Burns K, Vanden Heuvel JP. Modulation of PPAR activity via phosphorylation. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1771:952-60.
93. Juge-Aubry CE, Hammar E, Siegrist-Kaiser CA, Permin A, Takeshita A, Chin WW, et al. Regulation of the transcriptional activity of the peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$  by phosphorylation of a ligand-independent trans-activating domain. *J Biol Chem.* 1999;274:10505-10.
94. Passilly P, Schohn H, Jannin B, Malki MC, Boscoboinik D, Dauça M, et al. Phosphorylation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  in rat Fao cells and stimulation by ciprofibrate. *Biochem Pharmacol.* 1999;58:1001-9.
95. Lazennec G, Canaple L, Saugy D, Wahli W. Activation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) by their ligands and protein kinase A activators. *Mol Endocrinol.* 2000;14:1962-75.
96. Shalev A, Siegrist-Kaiser CA, Yen PM, Wahli W, Burger AG, Chin WW, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  is a phosphoprotein: regulation by insulin. *Endocrinology.* 1996;137:4499-502.
97. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, et al. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPAR $\alpha$  and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest.* 2001;107:1423-32.
98. Garbán HJ, Márquez-Grabén DC, Pietras RJ, Ignarro LJ. Rapid nitric oxide-mediated S-nitrosylation of estrogen receptor: regulation of estrogen-dependent gene transcription. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:2632-6.
99. Yamashita D, Yamaguchi T, Shimizu M, Nakata N, Hirose F, Osumi T. The transactivating function of peroxisome proliferator-activated receptor gamma is negatively regulated by SUMO conjugation in the amino-terminal domain. *Genes to Cells.* 2004;9:1017-29.
100. Ohshima T, Koga H, Shimotohno K. Transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  is modulated by SUMO-1 modification. *J Biol Chem.* 2004;279:29551-7.
101. Floyd E, Stephens JM. Control of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2 stability and activity by SUMOylation. *Obesity Res.* 2004;12:921-8.
102. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. The peroxisome proliferator activated receptor (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1302:93-109.
103. Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebvre AM, Deeb S, Staels B, Auwerx J. PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via PPRE in the lipoprotein lipase gene. *EMBO J.* 1996;15:5336-48.
104. Gervois P, Chopin-Delannoy S, Fadel A, Dubois G, Kosykh V, Fruchart JC, et al. Fibrates increase human REV-ERB $\alpha$  expression in liver via novel peroxisome proliferator-activated receptor response element. *Mol Endocrinol.* 1999;13:400-9.
105. Vu-Dac N, Chopin-Delannoy S, Gervois P, Bonnelye E, Martin G, Fruchart JC, et al. The nuclear receptors peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  and Rev-erb  $\alpha$  mediate the species-specific regulation of apolipoprotein A-I expression by fibrates. *J Biol Chem.* 1998;273:25713-20.
106. Qu S, Su D, Altomonte J, Kamagate A, He J, Perdomo G, et al. PPAR $\alpha$  mediates the hypolipidemic action of fibrates by antagonizing FoxO1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E421-34.
107. Dorfmeister B, Brandlhofer S, Schaap FG, Hermann M, Furnsinn C, Hagerty BP, et al. Apolipoprotein AV does not contribute to hypertriglyceridaemia or triglyceride lowering by dietary fish oil and rosiglitazone in obese Zucker rats. *Diabetologia.* 2006;49:1324-32.
108. Schoonjans K, Staels B, Grimaldi PA, Auwerx J. Acyl-CoA synthetase mRNA expression is controlled by fibric-acid derivatives, feeding and liver proliferation. *Eur J Biochem.* 1993;216:615-22.
109. Issemann I, Prince AR, Tugwood JD, Green S. A role for fatty acids and liver fatty acid binding protein in peroxisome proliferation? *Biochem Soc Trans.* 1992;20:824-7.
110. Kaikaus RM, Chan WK, Ortiz de Montellano PR, Bass NM. Mechanisms of regulation of liver fatty acid-binding protein. *Mol Cell Biochem.* 1993;123:93-100.
111. Spann NJ, Kang S, Li AC, Chen AZ, Newberry EP, Davidson NO, et al. Coordinate transcriptional repression of liver fatty acid-binding protein and microsomal triglyceride transfer protein blocks hepatic very low density lipoprotein secretion without hepatosteatosis. *J Biol Chem.* 2006;281:33066-77.
112. Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev.* 1999;20:649-88.
113. Hashimoto T, Fujita T, Usuda N, Cook W, Qi C, Peters JM, et al. Peroxisomal and mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation in mice nullizygous for both peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  and peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase. Genotype correlation with fatty liver phenotype. *J Biol Chem.* 1999;274:19228-36.
114. Baes M, Huyghe S, Carmeliet P, Declercq PE, Collen D, Mannaerts GP, et al. Inactivation of the peroxisomal multifunctional protein-2 in mice impedes the degradation of not only 2-methyl-branched fatty acids and bile acid intermediates but also of very long chain fatty acids. *J Biol Chem.* 2000;275:16329-36.
115. Reddy JK, Goel SK, Nemali MR, Carrino JJ, Laffler TG, Sperbeck SJ, et al. Transcription regulation of peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase and enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase in rat liver by peroxisome proliferators. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;83:1747-51.
116. Kurochkin IV, Mizuno Y, Konagaya A, Sakaki Y, Schonbach C, Okazaki Y. Novel peroxisomal protease Tysnd1 processes. *EMBO J.* 2007;26:835-45.
117. Zhang B, Marcus SL, Sajjadi FG, Alvares K, Reddy JK, Subramani S, et al. Identification of a peroxisome proliferator-responsive element upstream of the gene encoding rat peroxisomal enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992;89:7541-5.
118. Mascarác, Acosta E, Ortiz JA, Marrero PF, Hegardt FG, Haro D. Control of human muscle-type carnitine palmitoyltransferase I gene transcription by peroxisome proliferator-activated receptor. *J Biol Chem.* 1998;273:8560-3.
119. Pegorier JP. Regulation of gene expression by fatty acids. *Curr Opin Nutr Metab Care.* 1998;1:329-34.
120. Chatelain F, Kohl F, Esser V, McGarry D, Girard J, Pegorier JP. Cyclic AMP and fatty acids increased carnitine palmitoyltransferase I gene transcription in cultured fetal rat hepatocytes. *Eur J Biochem.* 1996;235:789-98.
121. Gulick T, Cresci S, Caira T, Moore DD, Kelly DP. The peroxisomal proliferator-activated receptor regulates mitochondrial fatty acid oxidative enzyme gene expression. *Proc Natl Acad Sci.* 1994;91:11012-6.
122. Rodríguez JC, Gil-Gómez G, Hegardt FG, Haro D. Peroxisome proliferator-activated receptor mediates induction of the mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene by fatty acids. *J Biol Chem.* 1994;269:18767-72.
123. Brun S, Carmona C, Mampel T, Viñas O, Giral M, Iglesias R, et al. Activators of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  induce expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle. A potential mechanism for the lipid intake-dependent activation of uncoupling protein-3 gene expression at birth. *Diabetes.* 1999;48:1217-22.
124. Cabrero A, Alegret M, Sánchez R, Adzet T, Laguna JC, Vázquez M. Down-regulation of uncoupling protein-3 and -2 by thiazolidinediones in C2C12 myotubes. *FEBS Lett.* 2000;484:37-42.
125. Muerhoff AS, Griffin KJ, Johnson E. The peroxisome proliferator-activated receptor mediates the induction of CYP4A6, a cytochrome P450 fatty acid omega-hydroxylase, by clofibrac acids. *J Biol Chem.* 1992;267:19051-3.
126. Aldridge TC, Tugwood JD, Green S. Identification and characterization of DNA elements implicated in the regulation of CYP4A1 transcription. *Biochem J.* 1995;306:473-9.

127. Castelein H, Gulick T, Declercq PE, Mannaerts GP, Moore DD, Baes MI. The peroxisome proliferator activated receptor regulates malic enzyme gene expression. *J Biol Chem.* 1994;269:26754-8.
128. Clarke SD, Jump DB. Polyunsaturated fatty acids regulate lipogenic and peroxisomal gene expression by independent mechanisms. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1997;57:65-9.
129. Ren B, Thelen AP, Jump DB. Peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$  inhibits hepatic S14 gene transcription. Evidence against the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  as the mediator of polyunsaturated fatty acids regulation of S14 gene transcription. *J Biol Chem.* 1996;271:17167-73.
130. Rodríguez C, Cabrero A, Roglans N, Adzet T, Sánchez R, Vázquez M, et al. Differential induction of stearyl-CoA desaturase and acyl-CoA oxidase genes by fibrates in HepG2 cells. *Biochem Pharmacol.* 2001;61:357-64.
131. Waterman IJ, Zammit VA. Differential effects of fenofibrate or simvastatin treatment of rats on hepatic microsomal overt and latent diacylglycerol acyltransferase activities. *Diabetes.* 2002;51:1708-13.
132. Malmendier CL, Delcroix C. Effects of fenofibrate on high and low density lipoprotein metabolism in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1985;55:161-9.
133. Bard JM, Parra HJ, Camare R, Luc G, Ziegler O, Dachet C, et al. A multicenter comparison of the effects of simvastatin and fenofibrate therapy in severe primary hypercholesterolemia, with particular emphasis on lipoproteins defined by their apolipoprotein composition. *Metabolism.* 1992;41:498-503.
134. Vu-Dac N, Schoonjans K, Kosykh V, Dallongeville J, Fruchart JC, Staels B, et al. Fibrates increase human apolipoprotein A-II expression through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor. *J Clin Invest.* 1995;96:741-50.
135. Vu-Dac N, Schoonjans K, Laine B, Fruchart J-C, Auwerx J, Staels B. Negative regulation of the human apolipoprotein A-I promoter by fibrates can be attenuated by the interaction of the peroxisome proliferator-activated receptor with its response element. *J Biol Chem.* 1994;269:31012-7.
136. Berthout L, Saladin R, Yacoobs P, Branellec D, Calder P, Fruchart JC, et al. Regulation of rat liver apolipoprotein A-I, apolipoprotein A-II and acyl-coenzyme A oxidase gene expression by fibrates and dietary fatty acids. *Eur J Biochem.* 1995;232:179-87.
137. Staels B, Van Tol A, Skretting G, Auwerx J. Lecithin: cholesterol acyltransferase gene expression is regulated in a tissue-selective manner by fibrates. *J Lipid Res.* 1992;33:727-35.
138. Staels B, Peinado-Onsurbe J, Auwerx J. Down-regulation of hepatic lipase gene expression and activity by fenofibrate. *Biochim Biophys Acta.* 1992;24:227-30.
139. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs H, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science.* 1996;271:460-1.
140. Calvo D, Gómez-Coronado D, Lasunción MA, Vega MA. CLA-1 is an 85-kD plasma membrane glycoprotein that acts as a high-affinity receptor for both native (HDL, LDL, and VLDL) and modified (OxLDL and AcLDL) lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vas Biol.* 1997;17:2341-9.
141. Mardones P, Pilon A, Bouly M, Duran D, Nishimoto T, Arai H, et al. Fibrates down-regulate hepatic scavenger receptor class B type I protein expression in mice. *J Biol Chem.* 2003;278:7884-90.
142. Kersten S, Seydoux J, Peters JM, González FJ, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  mediates the adaptive response to fasting. *J Clin Invest.* 1999;103:1489-98.
143. Guerre-Millo M, Gervois P, Raspé E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem.* 2000;275:16638-42.
144. Chou CJ, Haluzik M, Gregory C, Dietz KR, Vinson C, Gavrilova O, et al. WY14,643, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) agonist, improves hepatic and muscle steatosis and reverses insulin resistance in lipoatrophic A-ZIP/F-1 mice. *J Biol Chem.* 2002;277:24484-9.
145. Fruchart JC, Staels B, Duriez P. The role of fibrates in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2001;3:83-92.
146. Xu J, Christian B, Jump DB. Regulation of rat hepatic L-pyruvate kinase promoter composition and activity by glucose, n-polyunsaturated fatty acids, and peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  agonist. *J Biol Chem.* 2006;281:18351-62.
147. Wu P, Peters JM, Harris RA. Adaptive increased in pyruvate dehydrogenase kinase 4 during starvation is mediated by peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;287:391-6.
148. Desvergne B, Michalik L, Wahli W. Be fit or be sick: peroxisome proliferator-activated receptors are down the road. *Mol Endocrinol.* 2004;18:1321-32.
149. Walker CG, Sugden MC, Gibbons GF, Holness MJ. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha deficiency modifies glucose handling by isolated mouse adipocytes. *J Endocrinol.* 2007;193:39-43.
150. Tontonoz P, Hu E, Devine J, Beale EG, Spiegelman BM. PPAR  $\gamma$ 2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Mol Cell Endocrinol.* 1995;15:351-7.
151. Kersten S, Mandard S, Escher P, González FJ, Tafuri S, Desvergne B, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  regulates amino acids metabolism. *FASEB J.* 2001;15:1971-8.
152. Zambon A, Gervois P, Pauletto P, Fruchart JC, Staels B. Modulation of hepatic inflammatory risk markers of cardiovascular diseases by PPAR $\alpha$  activators. Clinical and Experimental evidences. *Arterioscler Thromb Vas Biol.* 2006;26:977-86.
153. Fiedler J, Simon FR, Iwahashi M, Murphy RC. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation on leukotriene B4 metabolism in isolated rat hepatocytes. *J Pharmacol Exper Ther.* 2001;299:691-7.
154. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPAR $\alpha$  activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation.* 1999;99:3125-31.
155. Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, Vanden Berghe W, Peters JM, González FJ, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factor NF- $\kappa$ B and AP-1. *J Biol Chem.* 1999;274:32048-54.
156. Goya K, Sumitani S, Kitamura T, Yamamoto H, Kurebayashi S, Saito H, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  agonists increase nitric oxide synthase expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vas Biol.* 2004;24:658-63.
157. Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Pineda Torra I, et al. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. *Nature.* 1998;393:790-3.
158. Shu H, Wong B, Zhou G, Li Y, Berger J, Wood JW. Activation of PPARalpha or gamma reduces secretion of matrix metalloproteinase 9 but not interleukin 8 from human monocytic THP-1 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;267:345-9.
159. Neve BP, Corseaux D, Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Duriez P, et al. PPARalpha agonists inhibit tissue factor expression in human monocytes and macrophages. *Circulation.* 2001;103:207-12.
160. Kockx M, Gervois P, Poulain P, Derudas B, Peters JM, González FJ, et al. Fibrates suppress fibrinogen gene expression in rodents via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *Blood.* 1999;93:2991-8.
161. Corton JC, Fan LQ, Brown S, Anderson SP, Bocos C, Cattley RC, et al. Down-regulation of cytochrome P450 2C family members and positive acute-phase response gene expression by peroxisome proliferator chemicals. *Mol Pharmacol.* 1998;54:463-73.
162. Kleemann R, Gervois P, Verschuren L, Princen HMG, Kooistra T. Fibrates down-regulate IL-1-stimulated C-reactive protein gene expression in hepatocytes by reducing nuclear p50-NF- $\beta$ B-C/EBP- $\beta$  complex formation. *Blood.* 2003;101:545-51.
163. Keating GM, Croom KF. Fenofibrate. A review of its use in primary dyslipidaemia, the metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Drugs.* 2007;67:121-53.
164. Sanguino E, Roglans N, Laguna JC. Fibrates, PPAR $\alpha$  and the ageing process: possible transcendence in human therapeutics. En: Vázquez Carrera M, Laguna JC, editores. *New emerging pharmacological target in metabolic diseases.* Kerala, India: Transworld Research Network; 2007. p. 119-28.

165. Sanguino E, Ramón M, Michalik L, Wahli W, Alegret M, Sánchez R, et al. Lack of hypotriglyceridemic effect of gemfibrozil as a consequence of age-related changes in rat liver PPAR alpha. *Biochem Pharmacol.* 2004;67:157-66.
166. Olivier P, Plancke MO, Theret N, Marzin D, Clavey V, Fruchart JC. Effects of fenofibrate on lipoprotein metabolism and fatty acid distribution in Zucker rats. *Atherosclerosis.* 1988;74:15-21.
167. Chaput E, Saladin R, Silvestre M, Edgar A. Fenofibrate and rosiglitazone lower serum triglycerides with opposing effects on body weight. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;271:445-50.
168. Olivier P, Plancke MO, Marzin D, Clavey V, Sauzieres J, Fruchart JC. Effects of fenofibrate, gemfibrozil and nicotinic acid on plasma lipoprotein levels in normal and hyperlipidemic mice. A proposed model for drug screening. *Atherosclerosis.* 1988;70:107-14.
169. Krause BR, Barnett BC, Essenburg AD, Kieft KA, Auerbach BJ, Bousley R, et al. Opposite effects of bezafibrate and gemfibrozil in both normal and hypertriglyceridemic rats. *Atherosclerosis.* 1996;127:91-101.
170. Pedraza N, Solanes G, Carmona MC, Iglesias R, Viñas O, Mampel T, et al. Impaired expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle during lactation. Fibrates and troglitazone reverse lactation-induced downregulation of the uncoupling protein-3 gene. *Diabetes.* 2000;49:1224-30.
171. Decclercq V, Yeganeh B, Moshtaghi-Kashanian GR, Khademi H, Bahadori B, Moghadasian MH. Paradoxical effects of fenofibrate and nicotinic acid in apo E-deficient mice. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005;46:18-24.
172. Fu T, Kashireddy P, Borensztajn J. The peroxisome-proliferator-activated receptor alpha agonist ciprofibrate severely aggravates hypercholesterolaemia and accelerates the development of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E. *Biochem J.* 2003;373:941-7.
173. Ribas V, Palomer X, Roglans N, Rotlan N, Fievet C, Tailleux A, et al. Paradoxical exacerbation of combined hyperlipidemia in human apolipoprotein A-II transgenic mice treated with fenofibrate. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1737:130-7.
174. Elam MB, Hunnigake DB, Davis KB, Garg R, Johnson C, Egan D, et al. Effect of niacin on lipid and lipoprotein levels and glycemic control in patients with diabetes and peripheral arterial disease: the ADMIT study: A randomized trial. *Arterial Disease Multiple Intervention Trial.* *JAMA.* 2000;284:1263-70.
175. Scheen AJ. Treatment of combined hyperlipidemia: fibrate and/or statin? *Rev Med Liege.* 1999;54:583-7.
176. Nerbrand C, Nyberg P, Nordstöm L, Samsioe G. Effects of a lipid lowering fibrates and hormone replacement therapy on serum lipids and lipoprotein in overweight postmenopausal women with elevated triglycerides. *Maturitas.* 2002;42:55-62.
177. Nesto RW. Beyond low-density lipoprotein: addressing the atherogenic lipid triad in type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2005;5:379-87.
178. Cicero AF, Derosa G, Miconi A, Laghi L, Nascetti S, Gaddi A. Treatment of massive hypertriglyceridemia resistant to PUFA and fibrates: a possible role for the coenzyme Q10? *Biofactors.* 2005;23:7-14.
179. Cicero AF, Derosa G, Miconi A, Laghi L, Nascetti S, Gaddi A. Possible role of ubiquinone in the treatment of massive hypertriglyceridemia resistant to PUFA and fibrates. *Biomed Pharmacother.* 2005;59:312-7.
180. Bosse Y, Pascot A, Dumont M, Brochu M, Prud'homme D, Bergeron J, et al. Influences of the PPAR alpha-L162V polymorphism on plasma HDL(2)-cholesterol response of abdominally obese men treated with gemfibrozil. *Genet Med.* 2002;4:311-5.
181. Brisson D, Ledoux K, Bosse Y, StPierre J, Julien P, Perron P, et al. Effect of apolipoprotein E, peroxisome proliferator-activated receptor alpha and lipoprotein lipase gene mutations on the ability of fenofibrate to improve lipid profiles and reach clinical guideline targets among hypertriglyceridemic patients. *Pharmacogenetics.* 2002;12:313-20.
182. Tai ES, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Coltell O, Schaefer EJ, et al. Polyunsaturated fatty acids interact with the PPARA-L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr.* 2005;135:397-403.
183. Sapone A, Peters JM, Sakai S, Tomita S, Papiha SS, Dai R, et al. The human peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene: identification and functional characterization of two natural allelic variants. *Pharmacogenetics.* 2000;10:321-33.
184. Foucher C, Rattier S, Flavell DM, Talmud PJ, Humphries SE, Kastelein JJ, et al. Response to micronized fenofibrate treatment is associated with the peroxisome-proliferator-activated receptors alpha G/C intron7 polymorphism in subjects with type 2 diabetes. *Pharmacogenetics.* 2004;14:823-9.
185. Cresci S. The PPAR genes, cardiovascular disease and the emergence of PPAR pharmacogenetics. *Expert Opin Pharmacother.* 2005;6:2577-91.
186. Brouillette C, Bosse Y, Perusse L, Gaudet D, Vohl MC. Effect of liver fatty acid binding protein (FABP) T94A missense mutation on plasma lipoprotein responsiveness to treatment with fenofibrate. *J Hum Genet.* 2004;49:424-32.
187. Tenkanen L, Manttari M, Manninen V. Some coronary risk factors related to the insulin resistance syndrome and treatment with gemfibrozil. Experience from the Helsinki Heart Study. *Circulation.* 1995;92:1779-85.
188. Semenkovich CF. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest.* 2006;116:1813-22.
189. Tai ES, Collins D, Robins SJ, O'Connor JJ Jr, Bloomfield HE, Ordovas JM, et al. The L162V polymorphism at the peroxisome proliferator activated receptor alpha locus modulates the risk of cardiovascular events associated with insulin resistance and diabetes mellitus: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT). *Atherosclerosis.* 2006;187:153-60.
190. Loffler M, Bilban M, Reimers M, Waldhausl W, Stulnig TM. Blood glucose-lowering nuclear receptor agonists only partially normalize hepatic gene expression in db/db mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;316:797-804.
191. Haluzik M, Gavrilova O, LeRoith D. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha deficiency does not alter insulin sensitivity in mice maintained on regular or high-fat diet: hyperinsulinemic-euglycemic clamp studies. *Endocrinology.* 2004;145:1662-7.
192. Matsui H, Okumura K, Hibino M, Toki Y, Ito T. Improved insulin sensitivity by bezafibrate in rats: relationship to fatty acid composition of skeletal-muscle triglycerides. *Diabetes.* 1997;46:348-53.
193. Ferré P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes.* 2004;53:S43-50.
194. Guerre-Millo M, Rouault C, Poulain P, Andre J, Poitout V, Peters JM, et al. PPAR-alpha-null mice are protected from high-fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes.* 2001;50:2809-14.
195. Knauf C, Rieusset J, Foretz M, Cani PD, Uldry M, Hosokawa M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  null mice have increased white tissue glucose utilization, GLUT4, and fat mass: role in liver and brain. *Endocrinology.* 2006;147:4067-78.
196. Van Heyningen C. Lipid metabolism: peroxisome proliferator-activated receptors. *Cur Opin Lipidol.* 2007;18:470-2.
197. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet.* 1963;1:785-9.
198. Steiner G. Altering triglyceride concentrations changes insulin-glucose relationships in hypertriglyceridemic patients. Double-blind study with gemfibrozil with implications for atherosclerosis. *Diabetes Care.* 2007;14:1077-81.
199. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, Schwammenthal E, Adler Y, Goldenbeg I, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor ligand bezafibrate for prevention of type 2 diabetes mellitus in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2004;109:2197-202.
200. Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, Henke BR. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem.* 2000;43:527-50.
201. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet.* 2005;366:1849-61.
202. Anderlová K, Dolezalová R, Housová J, Bosanská L, Haluziková D, Kremen J, et al. The influence of PPAR-agonist fenofibrate on

- insulin sensitivity and selected adipose tissue-derived hormones in obese women with type 2 diabetes. *Physiol Res*. 2007;56:579-86.
203. Subramanian S, DeRosa MA, Bernal-Mizruchi C, Laffely N, Cade WT, Yarasheski KE, et al. PPAR $\alpha$  activation elevates blood pressure and does not correct glucocorticoid-induced insulin resistance in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;291:E1365-71.
  204. Tordjman K, Bernal-Mizruchi C, Zeman L, Weng S, Feng C, Zhang F, et al. PPAR $\alpha$  deficiency reduces insulin resistance and atherosclerosis in apoE-null mice. *J Clin Invest*. 2001;107:1025-34.
  205. Barbier O, Pineda Torra I, Duguay C, Blanquart C, Fruchart JC, Glineur C, et al. Pleiotropic actions of peroxisome proliferator-activated receptor in lipid metabolism and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vas Biol*. 2002;22:717-26.
  206. Lee H, Shin W, Tontonoz P, Wang S, Subbanagounder G, Hedrick CC, et al. Role for peroxisome proliferator-activated receptor alpha in oxidized phospholipid-induced synthesis of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 by endothelial cells. *Circ Res*. 2000;87:516-21.
  207. Teissier E, Nohara G, Chinetti G, Paumelle R, Cariou B, Fruchart JC, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha induces NADPH oxidase activity in macrophages, leading to the generation of LDL with PPAR-alpha activation properties. *Circulation Res*. 2007;95:1174-82.
  208. Pasceri V, Cheng J, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*. 2001;103:2531-4.
  209. Poynter ME, Daynes RA. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activation modulates cellular redox status, represses nuclear factor- $\kappa$ B signaling, and reduces inflammatory cytokine production in aging. *J Biol Chem*. 1998;273:32833-41.
  210. Youssef J, Badr M. Role of peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Biomed Biotechnol*. 2004;3:156-66.
  211. Dayspring T, Pokrywka G. Fibrate therapy in patients with metabolic syndrome and diabetes mellitus. *Curr Atheroscler Rep*. 2006;8:356-64.
  212. Chhabria MT, Brahmshatriya PS. Novel targets for the treatment of atherosclerosis. *Curr Opin Investig Drugs*. 2006;7:820-5.
  213. Yumuk V. Targeting components of the stress system as potential therapies for the metabolic syndrome: the peroxisome proliferator-activated receptors. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1083:306-18.
  214. Olefsky JM. Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Clin Invest*. 2000;106:467-72.
  215. Chang F, Jaber LA, Berlie HD, O'Connell MB. Evolution of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Ann Pharmacother*. 2007;41:973-83.
  216. Nehlin JO. Recent Developments in the Treatment of Diabetes Type 2. En: Rattan S, Kassem M, editors. *Prevention and Treatment of Age-related Diseases*. Springer Netherlands; 2006. p. 133-59.
  217. Buchan K, Hassall D. PPAR agonists as direct modulators of the vessel wall in cardiovascular disease. *Med Res Rev*. 2000;20:350-66.
  218. Li PP, Shan S, Chen YT, Ning ZQ, Sun SJ, Lui Q, et al. The PPAR $\alpha$ /gamma dual agonist chiglitazar improves insulin resistance and dyslipidemia in MSG obese rats. *Br J Pharmacol*. 2006;148:610-8.
  219. Mamnoon PK, Hegde P, Datla SR, Damarla RK, Rajagopalan R, Chakrabarti R. Antihypertensive effect of ragaglitazar: a novel PPAR $\alpha$  and gamma dual activator. *Pharmacol Res*. 2006;54:129-35.
  220. Harrity T, Farrelly D, Tieman A, Chu C, Kunselman L, Gu L, et al. Muraglitazar, a novel dual (alpha/gamma) peroxisome proliferator-activated receptor activator, improves diabetes and other metabolic abnormalities and preserves beta-cell function in db/db mice. *Diabetes*. 2006;55:240-8.
  221. Kendall DM, Rubin CJ, Mohideen P, Ledezine JM, Belder R, Gross J, et al. Improvement of glycemic control, triglycerides, and HDL cholesterol levels with muraglitazar, a dual (alpha/gamma) peroxisome proliferator-activated receptor activator, in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin monotherapy: A double-blind, randomized, pioglitazone-comparative study. *Diabetes Care*. 2006;29:1016-23.
  222. Nissen SE, Wolski K, Topol EJ. Effect of muraglitazar on death and major adverse cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2005;294:2581-6.
  223. Chakrabarti R, Misra P, Vikramadithyan RK, Prekumar M, Hiriyani J, Datla SR, et al. Antidiabetic and hypolipidemic potential of DRF 2519- a dual activator of PPAR-alpha and PPAR-gamma. *Eur J Pharmacol*. 2004;491:195-206.
  224. Reifel-Miller A, Otto K, Hawkins E, Barr R, Bensch WR, Bull C, et al. A peroxisome proliferator-activated receptor alpha/gamma dual agonist with a unique in vitro profile and potent glucose and lipid effects in rodent models of type 2 diabetes and dyslipidemia. *Mol Endocrinol*. 2005;19:1593-605.
  225. Verreth W, Ganame J, Mertens A, Bernar H, Herregods MC, Holvoet P. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha, gamma-agonist improves insulin sensitivity and prevents loss of left ventricular function in obese dyslipidemic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:922-8.
  226. Hu X, Feng Y, Zhao XF, Yu JH, Yang YS, Leng Y. Antidiabetic effect of a novel non-thiazolidinedione PPAR gamma/alpha agonist on ob/ob mice. *Acta Pharmacol Sin*. 2006;27:1346-52.
  227. Xu C, Wang LL, Liu HY, Zhou XB, Cao YL, Li S. C333H, a novel PPAR $\alpha$ /gamma dual agonist, has beneficial effects on insulin resistance and lipid metabolism. *Acta Pharmacol Sin*. 2006;27:223-8.
  228. Calkin AC, Thomas MC, Cooper ME. MK-767. Kyorin/Banyu/Merck. *Curr Opin Investig Drugs*. 2003;4:444-8.
  229. Wallace JM, Schwarz M, Coward P, Houze J, Sawyer JK, Kelley KL, et al. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta agonists on HDL-cholesterol in vervet monkeys. *J Lipid Res*. 2005;46:1009-16.
  230. Tenenbaum A, Fisman EZ, Motro M, Adler Y. Atherogenic dyslipidemia in metabolic syndrome and type 2 diabetes: therapeutic options beyond statins. *Cardiovasc Diabetol*. 2006;5:20.
  231. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ. Dual and pan-peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) co-agonism: the bezafibrate lessons. *Cardiovasc Diabetol*. 2005;4:14.
  232. Pourcet B, Fruchart JC, Staels B, Glineur C. Selective PPAR modulators, dual and pan PPAR agonists: multimodal drugs for the treatment of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2006;11:379-401.
  233. Upton R, Widdowson PS, Ishii S, Tanaka H, Williams G. Improved metabolic status and insulin sensitivity in obese fatty (fa/fa) Zucker rats and Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rats treated with the thiazolidinedione, MCC-555. *Br J Pharmacol*. 1998;125:1708-14.
  234. Balint BL, Nagy L. Selective modulators of PPAR activity as new therapeutic tools in metabolic diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2006;6:33-43.
  235. Fujimura T, Kimura C, Oe T, Takata Y, Sakuma H, Aramori I, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulator with distinct fat cell regulation properties. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;318:863-71.
  236. Sirtori CR, Franceschini G, Gianfranceschi G, Sirtori M, Montanari G, Tremoli E, et al. Effects of gemfibrozil on plasma lipoprotein-apolipoprotein distribution and platelet reactivity in patients with hypertriglyceridemia. *J Lab Clin Med*. 1987;110:279-86.
  237. Feige JN, Gelman L, Rossi D, Zoete V, Metivier R, Tudor C, et al. The endocrine disruptor monoethyl-hexyl-phthalate is a selective Peroxisome Proliferator-activated Receptor [gamma] modulator that promotes adipogenesis. *J Biol Chem*. 2007;282:19152-66.
  238. Rieusset J, Touri F, Michalik L, Escher P, Desvergne B, Niesor E, et al. A new selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma antagonist with antiobesity and antidiabetic activity. *Mol Endocrinol*. 2002;16:2628-44.
  239. Rakic B, Sagan SM, Noestheden M, Belanger S, Nan X, Evans CL, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha antagonism inhibits hepatitis C virus replication. *Chem Biol*. 2006;13:23-30.
  240. Ouamrane L, Larrieu G, Gauthier B, Pineau T. RXR activators molecular signalling: involvement of a PPAR alpha-dependent

- pathway in the liver and kidney, evidence for an alternative pathway in the heart. *Br J Pharmacol*. 2003;138:845-54.
241. Martin G, Poirier H, Hennuyer N, Crombie DL, Fruchart JC, Heyman RA, et al. Induction of the fatty acid transport protein 1 and acyl-CoA synthase genes by dimer-selective retinoids suggests that the peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimer is their molecular target. *J Biol Chem*. 2000;275:12612-8.
242. Mukherjee R, Davies PJA, Crombie DL, Bischoff ED, Cesarie RM, Jow L, et al. Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid X receptor agonists. *Nature*. 1997;386:407-10.
243. Rizvi NA, Marshall JL, Dahut W, Ness E, Truglia JA, Loewen G, et al. A Phase I study of LGD1069 in adults with advanced cancer. *Clin Cancer Res*. 1999;5:1658-64.
244. Liu S, Ogilvie KM, Klausning K, Lawson MA, Jolley D, Li D, et al. Mechanism of selective retinoid X receptor agonist-induced hypohydroidism in the rat. *Endocrinology*. 2002;143:2880-5.
245. Bocos C, Herrera E. Comparative study on the "in vivo" and "in vitro" antilipolytic effects of etofibrate, nicotinic acid and clofibrate in the rat. *Environ Toxicol Pharmacol*. 1996;2:351-7.
246. Cignarella A, Bellosta S, Corsini A, Bolego C. Hypolipidemic therapy for the metabolic syndrome. *Pharmacol Res*. 2006;53:492-500.
247. Bocos C, Castro M, Quack G, Herrera E. Studies with etofibrate in the rat. Part II: A comparison of the effects of prolonged and acute administration on plasma lipids, liver enzymes and adipose tissue lipolysis. *Biochim Biophys Acta*. 1993;1168:340-7.
248. Jastrzebska M, Torbus-Lisiecka B, Pieczul-Mroz J, Chelstowski K, Kopciwicz J, Naruszewicz M. Etofibrate decreases factor VII and fibrinogen levels in patients with polymetabolic syndrome. *Int J Clin Pharmacol Res*. 1999;19:19-25.
249. Davidson MH. Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol*. 2006;98:27i-33i.
250. Krey G, Braissant O, L'Horsset F, Kalkhoven E, Perroud M, Parker MG, et al. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol Endocrinol*. 1997;11:779-91.
251. Li H, Ruan XZ, Powis SH, Fernando R, Mon WY, Wheeler DC, et al. EPA and DHA reduce LPS-induced inflammation responses in HK-2 cells: evidence for a PPAR-gamma-dependent mechanism. *Kidney Int*. 2005;67:867-74.
252. Bassaganya-Riera J, Reynolds K, Martino-Catt S, Cui Y, Hennighausen L, González F, et al. Activation of PPAR gamma and delta by conjugated linoleic acid mediates protection from experimental inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2004;127:777-91.
253. Houseknecht KL, Vanden Heuvel JP, Moya-Camarena SY, Portocarrero CP, Peck LW, Nickel KP, et al. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;244:678-82.
254. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo VJ, Serrano A, Rodríguez de FF, et al. Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature*. 2003;425:90-3.
255. Su HF, Samsamshariat A, Fu J, Shan YX, Chen YH, Piomelli D, et al. Oleyethanolamide activates Ras-Erk pathway and improves myocardial function in doxorubicin-induced heart failure. *Endocrinology*. 2006;147:827-34.
256. Guzman M, Lo VJ, Fu J, Oveisi F, Blázquez C, Piomelli D. Oleyethanolamide stimulates lipolysis by activating the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR-alpha). *J Biol Chem*. 2004;279:27849-54.
257. Espósito E, Cuzzocrea S, Meli R. Peroxisome proliferator-activated receptors and shock state. *Scientific World J*. 2006;6:1770-82.
258. Yajima H, Ikeshima E, Shiraki M, Kanaya T, Fujiwara D, Odai H, et al. Isohumulones, bitter acids derived from hops, activate both peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma and reduce insulin resistance. *J Biol Chem*. 2004;279:33456-62.
259. Miura Y, Hosono M, Oyamada C, Odai H, Oikawa S, Kondo K. Dietary isohumulones, the bitter components of beer, raise plasma HDL-cholesterol levels and reduce liver cholesterol and triacylglycerol contents similar to PPARalpha activations in C57BL/6 mice. *Br J Nutr*. 2005;93:559-67.
260. Yajima H, Noguchi T, Ikeshima E, Shiraki M, Kanaya T, Tsuboyama-Kasaoka N, et al. Prevention of diet-induced obesity by dietary isomerized hop extract containing isohumulones, in rodents. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29:991-7.
261. Torres N, Torre-Villalvazo I, Tovar AR. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *J Nutr Biochem*. 2006;17:365-73.
262. Velásquez MT, Bhatena SJ. Role of dietary soy protein in obesity. *Int J Med Sci*. 2007;4:72-82.
263. Mezei O, Li Y, Mullen E, Ross-Viola JS, Shay NF. Dietary isoflavone supplementation modulates lipid metabolism via PPAR $\alpha$  dependent and -independent mechanisms. *Physiol Genomics*. 2006;26:8-14.
264. Ricketts ML, Moore DD, Banz WJ, Mezei O, Shay NF. Molecular mechanisms of action of the soy isoflavones includes activation of promiscuous nuclear receptors. A review. *J Nutr Biochem*. 2005;16:321-30.
265. Mezei O, Banz WJ, Steger RW, Peluso MR, Winters TA, Shay N. Soy isoflavones exert antidiabetic and hypolipidemic effects through the PPAR pathways in obese Zucker rats and murine RAW 264.7 cells. *J Nutr*. 2003;133:1238-43.
266. Rimando AM, Nagmani R, Feller DR, Yokoyama W. Pterostilbene, a new agonist for the peroxisome proliferator-activated receptor alpha-isoform, lowers plasma lipoproteins and cholesterol in hypercholesterolemic hamsters. *J Agric Food Chem*. 2005;53:3403-7.