

# RECEPTORES DE LDL: ALVO PARA DROGAS ANTI-NEOPLÁSICAS

## LDL RECEPTORS: ANTINEOPLASIC DRUG TARGET

Giovani Marino Favero<sup>1</sup>, Sérgio Paulo Bydlowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Autor para contato: Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Biologia Geral; (42) 3220-3128; e-mail: gmfavero@uepg.br

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina da USP (FMUSP), Clínica Médica, LIM 31-Hematologia Molecular.

*Recebido para publicação em 20/04/2007*

*Aceito para publicação em 25/05/2007*

### RESUMO

O direcionamento e acúmulo de drogas em tumores é um dos grandes desafios das quimioterapias. Os principais benefícios desta estratégia terapêutica seriam o aumento da potência farmacoterapêutica e a diminuição dos efeitos colaterais. Dentre as possibilidades envolvendo o direcionamento dos quimioterápicos, estão o uso de enzimas, anticorpos, lipossomas e microemulsões. O presente trabalho objetiva mostrar as possibilidades da utilização dos receptores da lipoproteína de baixa densidade (LDLr) como alvo para o direcionamento de quimioterápicos. Esta hipótese vem sendo estudada desde meados do século passado e é fruto da descoberta da importância dos LDLr em tumores com crescimento descontrolado. Esta é a principal via de fornecimento de colesterol para a produção de membranas para as células tumorais que apresentam uma maior expressão de LDLr.

Palavras-chave: Câncer. LDL. Receptores LDL. Quimioterapia seletiva.

### ABSTRACT

Drug targeting and accumulation in tumors are great challenges of chemotherapy. The main benefits of this therapeutical strategy would be the increase of the pharmacotherapeutical potency and the reduction of collateral effects. Amongst the possibilities involving chemotherapeutic targeting are the use of enzymes, antibodies, liposomes and microemulsions. The aim of the present study is to show the possibilities of the use of low density lipoprotein receptors (LDLr) as a target for chemotherapics. This hypothesis has been studied since the middle of the last century and it derives from the discovery of the importance of LDLr in tumors with uncontrolled growth. This is the main way used by tumor cells to supply the cholesterol needed in the production of membranes, because these cells present a more expressive amount of LDLr.

Keywords: Cancer. LDL. LDLr. Drug targeting.

## Introdução

A terapia seletiva no tratamento do câncer, através de veículos capazes de direcionar drogas anti-neoplásicas ao alvo, vem sendo objeto de vários estudos. Até hoje, não há nenhuma substância que seja completamente seletiva para células malignas, sendo que os quimioterápicos utilizados são tóxicos, de modo dependente da dose (ROTHENBERG et al., 2003).

Os efeitos colaterais dos quimioterápicos estimulam as pesquisas de veículos para entrega seletiva de fármacos aos tumores. As pesquisas envolvem o uso de enzimas, anticorpos, lipossomas e microemulsões (VAN BERKEL, 1993).

Dentre os veículos que podem ser utilizados com este propósito, a lipoproteína de baixa densidade (LDL), que é um constituinte normal do sangue, além de ser a principal transportadora de colesterol para todos os tecidos, vem sendo estudada. O colesterol, um dos principais constituintes da membrana celular, é obtido pela célula por síntese celular ou via captação de LDL. Há evidências que vários tipos de células neoplásicas possuem maior captação de LDL: medida da captação de LDL pelos tumores; diminuição da LDL plasmática em pacientes com câncer; aumento do número de receptores para LDL (LDL-R) em células tumorais. Devido a estes aspectos, há mais de duas décadas estuda-se a possibilidade de veicular drogas através da LDL ou de substâncias que atuem similarmente a ela (FIRESTONE, 1993).

## LDL

A lipoproteína de baixa densidade (LDL) é a principal transportadora de colesterol na circulação, carregando cerca de 2/3 do colesterol total (BROWN et al., 1981). As partículas de LDL possuem um diâmetro médio de 22nm e são constituídas de aproximadamente 170 moléculas de triglicerídeos e 1600 moléculas de colesterol esterificado, com 700 moléculas de fosfolipídios na monocamada que a reveste, contendo apenas uma apolipoproteína, a apoB-100 e 600 moléculas de colesterol livre, sen-

do um terço no interior da vesícula e o restante no envoltório. (HEVONOJA et al., 2000).

A ApoB-100 é uma das maiores proteínas monoméricas conhecidas, contendo aproximadamente 4536 aminoácidos. As apolipoproteínas possuem distribuição dinâmica entre diferentes lipoproteínas, isto é, uma mesma molécula pode ser translocada para diferentes complexos lipoprotéicos na circulação sanguínea. A apo B-100 e Apo B-48, devido provavelmente ao seu grau de interação com os componentes lipídicos das lipoproteínas, não apresentam esta propriedade de translocação (HEVONOJA et al., 2000).

A LDL é originada da VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), que é produzida no fígado e convertida em LDL, através de processo metabólico ocorrido na circulação. Possui uma meia-vida plasmática de aproximadamente dois dias. Sua densidade varia entre 1,019 e 1,063 g/ml, possuindo 3 subclasses bem definidas dentro desta variação de densidade (RHAINDS et al., 1999).

A remoção da LDL do plasma é feita principalmente pelo fígado, mas também periféricamente, ocorrendo a captação da LDL através da interação com os receptores de LDL (LDL-R). Estes receptores, que têm afinidade tanto por Apo B-100 como por Apo E, encontram-se em regiões específicas da membrana de todos os tipos celulares do nosso organismo (GOLDSTEIN et al., 1983).

Após a interação da lipoproteína com o receptor, ocorre sua internalização com a participação da clatrina, uma proteína de sustentação celular, formando vesículas endocíticas, cuja fusão forma os endossomos. A diminuição do pH local promove a liberação do receptor de LDL, que acaba por voltar à superfície da membrana (GOLDSTEIN et al., 1980).

A Figura 1 mostra, esquematicamente, o metabolismo celular do colesterol e a participação dos receptores de LDL.

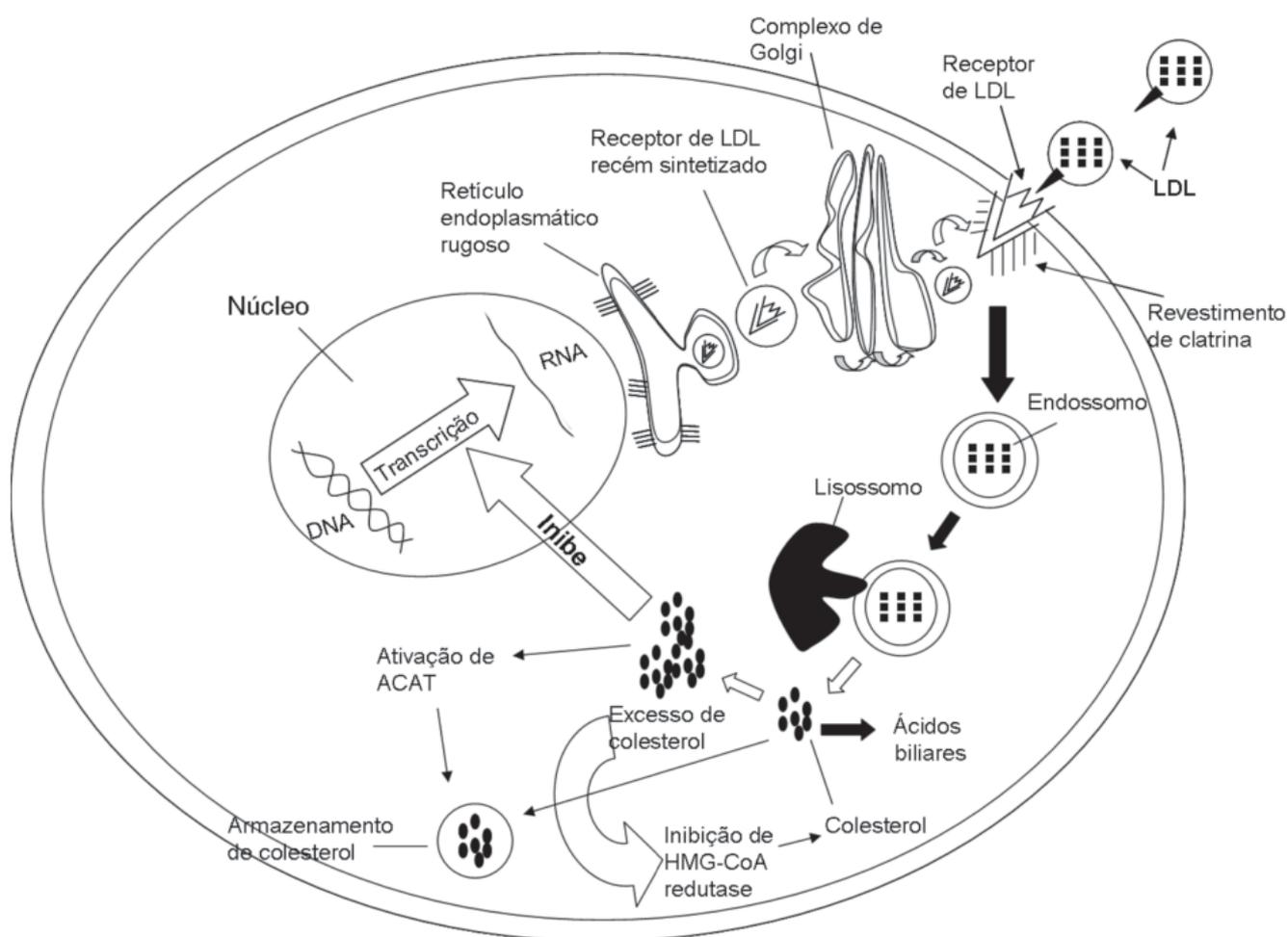
A concentração de colesterol intracelular é o regulador da afinidade dos receptores B/E por LDL, assim como da sua expressão. Paralelamente, há uma diminuição da atividade da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima-A-redutase (HMG CoA), responsável pela principal etapa de biossíntese do

colesterol. A HMG CoA redutase faz parte do mecanismo que converte endogenamente acetil coenzima A em colesterol.

A importância dos receptores de Apo B/E nas células é demonstrada nos altos níveis de LDL plasmático, encontrados em pacientes com hipercolesterolemia familiar, nos quais a perda da capacidade de ligação dos receptores celulares de Apo B/E torna-os incapazes de internalizar lipoproteínas (RALL et al., 1983).

Os níveis de LDL plasmáticos estão grandemente implicados no desenvolvimento de vários processos patológicos, dos quais talvez o mais conhecido seja a aterosclerose. Uma concentração

aumentada de colesterol plasmático é um fator de risco para a aterosclerose, o que tem sido bem caracterizado. Há mais de 80 anos, sabe-se que alimentando-se animais com dietas com excesso de colesterol, há aumento de colesterolemia e desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. De fato, já em seus estágios iniciais, a aterosclerose é caracterizada pela presença, na íntima arterial, das células espumosas, que são macrófagos cheios de colesterol.



**Figura 1** – Representação da interação da LDL com a célula. O receptor de LDL está localizado sobre a superfície celular. A LDL liga-se ao receptor e é conduzida ao citoplasma por vesículas recobertas formando os endossomos, que se fundem ao lisossomo. Nos lisossomos, a apoB-100 é degradada em aminoácidos, enquanto o éster de colesterol, triglicerídeos e os fosfolipídios são hidrolisados por hidrolases ácidas, gerando colesterol livre e ácidos graxos livres. O colesterol livre resultante atua de forma inibitória na produção de novos receptores de LDL, ativa a enzima ACAT, responsável pela esterificação e armazenamento do próprio colesterol, além de inibir a enzima HMGCoA redutase, principal enzima na síntese endógena de colesterol.

## Hipocolesterolemia e câncer

A primeira documentação da diminuição do colesterol circulante em pacientes com neoplasias foi realizada em 1939 por MÜLLER, quando se observou que os pacientes com leucemia apresentavam baixo colesterol. Após este relato, poucos estudos foram realizados.

No início da década de 80, WHITEHALL, observando quase 20.000 homens por mais de 7 anos, constatou claramente a diminuição dos níveis circulantes de colesterol em casos de câncer. Hoje, o que é de especial importância é o fato de a diminuição do colesterol circulante ser proporcional à agressividade e/ou à metastatização do câncer, de acordo com maiores necessidades de LDL (HO et al., 1978).

A alta necessidade de LDL, pelas células malignas, está relacionada ao rápido crescimento e divisão celular. A primeira documentação do fato ocorreu em 1978, quando se observou que células de leucemia aguda captavam de 3-100 vezes mais LDL do que células normais (KRITCHEVSKY et al., 1991).

Alguns tumores sólidos, como câncer epidermóide cervical, captam 15 vezes mais LDL do que tecidos adrenais e 50 vezes mais do que o tecido ginecológico normal. Muitos tumores cerebrais captam 2 a 3 vezes mais LDL do que o tecido cerebral sadio, especialmente meduloblastoma, oligodendroglioma e meningioma maligno (FIRESTONE, 1994).

## Emulsões lipídicas

Emulsões são misturas altamente interdispersas de dois líquidos, aquosos ou oleosos, que não formam soluções. Essa extensa fronteira entre os domínios de aquoso e oleoso é estabilizada por um terceiro componente, o surfactante. Assim, há uma fase dispersa chamada de fase interna e uma fase contínua chamada de fase externa.

A lipoproteína de baixa densidade (LDL) pode ser considerada a fase interna de uma microemulsão. Como já referido, ela possui um núcleo constituído

por éster de colesterol (45-50% da massa) e triglicérides (3-4%), envolvida por uma monocamada de fosfolipídios (16-25%) e colesterol não esterificado (5-8%), sendo a fase externa o sangue. ApoB-100 é praticamente a única proteína na LDL e serve como seu ligante em receptores específicos de membrana plasmática (GOLDSTEIN et al., 1983).

O termo microemulsão foi introduzido por Schulmann, em 1943, e é definido como uma dispersão transparente, fluida, opticamente isotrópica e termodinamicamente estável de dois líquidos imiscíveis, contendo quantidades apropriadas de surfactante. São opticamente transparentes, em decorrência do diminuto tamanho dos microdomínios de água e óleo (10-200 nm), que não espalham luz visível.

Do ponto de vista microestrutural, as microemulsões podem ser encaradas como agregados de surfactantes (micelas), de água dispersos em óleo (a/o) ou de óleo dispersos em água (o/a). Mais precisamente, poderiam ser definidas como micelas inchadas pela incorporação dos demais lipídios. Em uma micela, as moléculas de surfactante estão organizadas em monocamadas com seus grupos polares (cabeça), orientadas na direção da água e suas caudas na direção do óleo.

MARANHÃO et al. (1993) descreveu uma microemulsão lipídica sintética (LDE) com determinadas características que a tornaram funcionalmente semelhante à LDL, sendo capaz de incorporar apoE, proteína através da qual se liga ao receptor de LDL. Essa emulsão está sendo experimentalmente utilizada para transportar quimioterápicos até determinadas células cancerígenas, uma vez que essas células apresentam uma maior captação de LDL, por possuírem um número maior de receptores em relação a células normais (HO et al., 1978; MOSLEY et al., 1981). Estas células proliferam rapidamente, necessitando de uma maior demanda para a síntese de membranas, tanto plasmática, como a nuclear e mitocondrial. O aumento de receptores para LDL em células neoplásicas pode atingir de 3 a 100 vezes o número das células normais. (MARANHÃO et al., 1993).

Estudos em ratos demonstraram que a cinética plasmática da LDE se assemelha à LDL, havendo

**Tabela 1** - Comparação entre a LDL e dois de seus análogos sintéticos, a microemulsão LDE e o lipossoma de RENSEN (1997).

	Principal Lipídio	Diâmetro (nm)	Estabilidade	Diluição em água	Preparação	Purificação
LDL	Colesterol	20-25	Dias	Não se alteram	Metabolismo da VLDL	Ultracentrifugação
Emulsão (LDE)	Fosfolípide	30-50	Semana/meses	Formação micelas	Sonicação	Ultracentrifugação
Lipossoma (RENSEN)	Fosfolípide	15-30	Semana/meses	Não se alteram	Sonicação	Ultracentrifugação

evidências da captação pelos mesmos receptores que retiram a LDL da circulação (MARANHÃO et al., 1993). Dando continuidade à experimentação, testou-se LDE em indivíduos normolipêmicos e em portadores de hipercolesterolemia, observando-se que a emulsão era removida lentamente da circulação nos pacientes com a patologia, que é caracterizada por apresentarem receptores de apo B/E defeituosos. Em outro estudo, foram analisados pacientes com leucemia mielóide aguda (LMA) e leucemia linfocítica aguda (LLA). A LMA apresenta número de receptores de LDL aumentado, enquanto que na LLA o número de receptores continua normal. Conforme esperado, a LDE foi removida com velocidade muito maior nos pacientes com LMA. (MARANHAO et al., 1992, 1994).

Vários grupos trabalham com o mesmo conceito. PONTY et al (1993) demonstraram acúmulo de LDL humana marcada com Tc em tumores implantados (melanoma, B16F10) de camundongos (C57bl/6). Após oito dias do implante do tumor, o acúmulo de LDL detectado era maior no tumor do que no fígado ou rim.

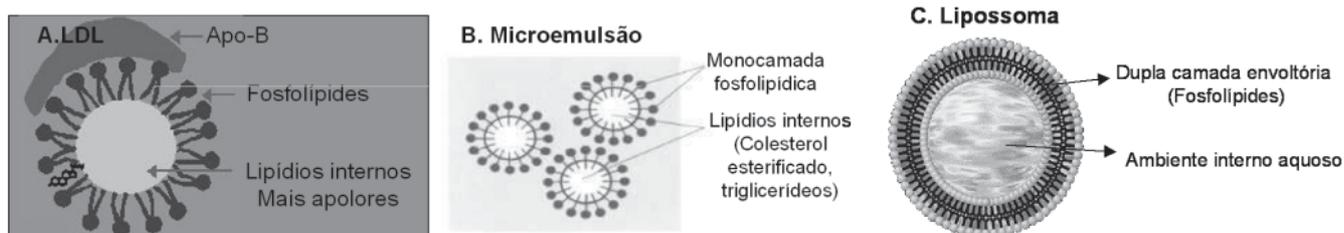
## Lipossomas

Os primeiros estudos sobre lipossomas datam do início dos anos 60. De maneira simplificada,

podemos descrever os lipossomas como vesículas formadas por fosfolipídios dispersos em ambiente aquoso. Ele é composto por uma fina membrana que circunda um compartimento aquoso, uma membrana dupla semelhante a uma membrana celular.

Os lipossomas possuem uma longa história de estudos relacionados a membranas biológicas, mas, recentemente, tem sido avaliado como um sistema de transporte e liberação de drogas, vitaminas e em cosméticos. Eles têm características específicas, conforme o objetivo de utilização, podendo variar na composição lipídica, na carga elétrica e no método de preparação.

Em 1998, VERSLUIS et al. demonstraram a possibilidade da utilização de lipossomas enriquecidos com apoE, como veículo para a daunorubicina atingir o tumor. Rensen et al (1997) demonstraram melhor eficácia na utilização de lipossomas enriquecidos com apoE, associados a quimioterápicos, do que LDL, associada a quimioterápicos, além de constatar uma igual cinética de absorção e excreção entre o lipossoma enriquecido com apoE e a LDL. A tabela 1 e a figura 2 mostram uma comparação estrutural e funcional entre a LDL natural e uma emulsão e um lipossoma com características funcionais semelhantes à LDL, por incorporação de apolipoproteínas.



**Figura 2:** Esquema estrutural de: A: LDL; B: Microemulsão; C: Lipossoma.

## Conclusão

As emulsões e lipossomas citados, utilizados como análogos da LDL, têm como propósito minimizar efeitos colaterais de quimioterápicos comuns, como a mielossupressão, toxicidade renal, hepática, neurológica, além do possível desenvolvimento de neoplasias secundárias, devido ao direcionamento às células cancerígenas. Sendo assim, o objetivo desta possível terapia é a destruição seletiva de células malignas, sem que órgãos e tecidos normais sejam atingidos.

A produção destas partículas tende a evoluir para preparações ideais, como veículos de drogas antineoplásicas, na rotina terapêutica do câncer. A fácil incorporação de substâncias lipofílicas a microemulsões e lipossomas por incubação ou co-sonicação, associada à sua maior captação pelas células neoplásicas, pode, em um futuro próximo, minimizar os indesejáveis efeitos colaterais das drogas anti-neoplásicas.

## REFERÊNCIAS

- BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Lowering plasma cholesterol by raising ldl receptors. 1981. **Atheroscler.Suppl.**, v. 5, p.57-59, 2004.
- FIRESTONE, R. A. Low-density lipoprotein as a vehicle for targeting antitumor compounds to cancer cells. **Bioconjug. Chem.**, v.5, p.105-113, 1994.
- GOLDSTEIN, J. L.; BASU, S. K.; BROWN, M. S. Receptor-mediated endocytosis of low-density lipoprotein in cultured cells. **Methods Enzymol.**, v.98, p.241-260, 1983.
- HEVONOJA, T. et al. Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: basis for understanding molecular changes in modified LDL. **Biochim.Biophys.Acta**, v.1488, p.189-210, 2000.
- HO, Y. K., et al. Low-density lipoprotein (LDL) receptor activity in human acute myelogenous leukemia cells. **Blood**, v.52, p.1099-1114, 1978.
- KRITCHEVSKY, S. B. et al. Changes in plasma lipid and lipoprotein cholesterol and weight prior to the diagnosis of cancer. **Cancer Res.**, v.51, p.3198-3203, 1991.
- MARANHAO, r. c. et al. Metabolic behavior in rats of a non-protein microemulsion resembling low- density lipoprotein. **Lipids**, v.28, p.691-696, 1993.
- \_\_\_\_\_. Plasma kinetics and biodistribution of a lipid emulsion resembling low- density lipoprotein in patients with acute leukemia. **Cancer Res.**, v.54, p.4660-4666, 1994.
- \_\_\_\_\_. Plasma kinetic behavior in hyperlipidemic subjects of a lipidic microemulsion that binds to low density lipoprotein receptors. **Lipids**, v.32: p.627-633, 1997.
- MOSLEY, S. T. et al. Targeted killing of cultured cells by receptor-dependent photosensitization. **Proc.Natl.Acad. Sci.U.S.A.**, v.78: p.5717-5721, 1981.
- PONTY, E., et al. Biodistribution study of <sup>99m</sup>Tc-labeled LDL in B16-melanoma-bearing mice. Visualization of a preferential uptake by the tumor. **Int.J.Cancer**, v.54, p.411-417, 1993.
- RALL, S. C. Jr. et al. Identical structural and receptor binding defects in apolipoprotein E2 in hypo-, normo-, and hypercholesterolemic dysbetalipoproteinemia. **J.Clin.Invest**, v.71, p.1023-1031, 1983.
- RENSEN, P. C. et al. Human recombinant apolipoprotein E-enriched liposomes can mimic low-density lipoproteins as carriers for the site-specific delivery of antitumor agents. **Mol. Pharmacol.**, v.52, p. 445-455, 1997.
- RHAINDS, D.; BRISSETTE, L. Low density lipoprotein uptake: holoparticle and cholesteryl ester selective uptake. **Int.J.Biochem.Cell Biol.**, v.31, p.915-931, 1999.
- ROTHENBERG, M. L., CARBONE, D. P., AND JOHNSON, D. H. Improving the evaluation of new cancer treatments: challenges and opportunities. **Nat.Rev.Cancer**, v.3, p.303-309, 2003.
- VAN BERKEL, T. J. et al. Lipoprotein receptors and atherogenic receptor-mediated mechanisms. **Curr.Opin.Lipidol.**, v.5, p.331-338, 1994.
- VERSLUIS, A. J. et al.. Low-density lipoprotein receptor-mediated delivery of a lipophilic daunorubicin derivative to B16 tumours in mice using apolipoprotein E-enriched liposomes. **Br.J.Cancer**, v.78 p.1607-1614, 1998.