

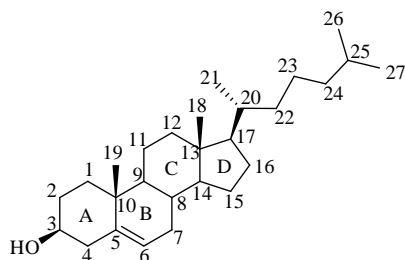
# OXIESTERÓIS: O SEU PAPEL NA SAÚDE E NA DOENÇA

**M. MANUEL CRUZ SILVA, JOÃO F. S. CARVALHO, M. LUISA SÁ E MELO\***

Os oxisteróis são derivados oxidados do colesterol, amplamente distribuídos no organismo humano. A diversidade de funções fisiológicas dos oxisteróis continua a ser largamente investigada. Os oxisteróis exercem efeitos citotóxicos, pró-apoptóticos e pró-inflamatórios que os implicam em diversas situações patológicas, nomeadamente a aterogênese e a neurodegenerescência. Por outro lado, os oxisteróis têm vindo a revelar um potencial terapêutico interessante como compostos antitumorais e como promotores da osteogênese.

## INTRODUÇÃO

Os oxisteróis representam um grupo de derivados oxigenados do colesterol, o qual é composto de 3 regiões sub-estruturais: uma cadeia hidrocarbonada, também designada cadeia lateral, uma estrutura policíclica constituída por quatro anéis (A, B, C e D) e um grupo hidroxilo na posição 3 (Figura 1). Os oxisteróis contêm um ou mais oxigénios adicionais na estrutura anelar ou na cadeia lateral e encontram-se distribuídos em fluidos e tecidos animais e em alimentos de origem animal.



**Figura 1** – Estrutura química do colesterol

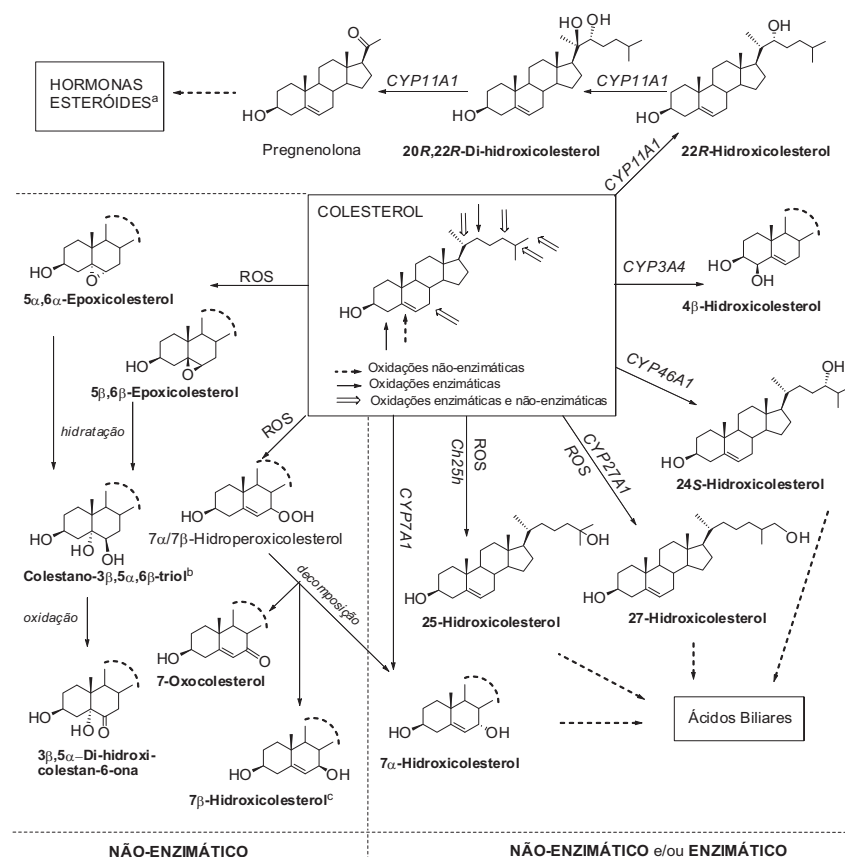
*In vivo*, os oxisteróis são formados por oxidação do colesterol, quer enzimática quer não-enzimática (Figura 2). Adicionalmente, os oxisteróis podem entrar no organismo pela via alimentar.

A oxidação enzimática do colesterol envolve um conjunto de enzimas oxidativas. Os oxisteróis mais representativos deste grupo são o 4 $\beta$ -hidroxicolesterol, o 7 $\alpha$ -

hidroxicolesterol e os oxisteróis da cadeia lateral (Figura 2).

A oxidação não enzimática ocorre sobretudo ao nível da dupla ligação, a qual é susceptível ao ataque de radicais livres, embora possa ocorrer oxidação também na cadeia lateral.

Assim, a oxidação nas posições 5, 6 e 7 origina o  $\alpha$ - e  $\beta$ -epóxido do colesterol, o 7 $\alpha$ - e o 7 $\beta$ -hidroxicoolesterol, bem como a cetona correspondente, o triol resultante da abertura dos epóxidos e, ainda, o 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -di-hidroxicolestan-6-ona (Figura 2).



**Figura 2** – Biossíntese dos oxisteróis por auto-oxidação e por oxidação enzimática do colesterol [1–6]. ROS: espécies reactivas de oxigénio. Enzimas: **CYP3A4**: citocromo P<sub>450</sub> 3A4; **CYP7A1**: colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilase; **CYP11A1**: colesterol desmolase (P450scc); **Ch25h**: colesterol 25-hidroxilase; **CYP27A1**: esterol 27-hidroxilase; **CYP46A1**: colesterol 24-hidroxilase. a) Formação de hormonas esteróides de acordo com a via mais aceite de clivagem da cadeia lateral, embora outras vias tenham sido sugeridas [7]; b) a formação de colestan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol pode também ser mediada *in vivo* através da biotransformação do 5,6-epoxicolesterol pela respectiva hidrolase [8]; c) a redução enzimática do 7-oxocolesterol pela 11 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 (**CYP11B1**) foi descrita como uma via de síntese do 7 $\beta$ -hidroxicolesterol [9, 10], a qual pode contribuir para o rápido metabolismo do 7-oxocolesterol no fígado [11]

Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Pólo das Ciências da Saúde, 3000-548, Coimbra, Portugal  
Centre for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Portugal  
E-mail address: samelo@ff.uc.pt

A introdução de um oxigénio aumenta a velocidade de degradação do colesterol em produtos mais polares e facilita a saída da célula e posterior eliminação.

Os oxisteróis são transportados no plasma pelas lipoproteínas, sobretudo pelas lipoproteínas de baixa densidade.

Os oxisteróis são conhecidos desde há várias décadas. O isolamento do primeiro oxisterol, o 7 $\beta$ -hidroxicoesterol, data de 1939 [12]. Todavia, apenas nos anos 70 os efeitos biológicos dos oxisteróis começaram a ser conhecidos, nomeadamente, efeitos antiproliferativos [13] e de regulação da homeostase do colesterol [14]. Uma intensa investigação foi desencadeada desde então, procurando esclarecer o papel fisiológico dos oxisteróis, bem como o seu envolvimento em algumas situações patológicas.

Devido à sua natureza anfífila, os oxisteróis atravessam as membranas celulares com maior facilidade que o colesterol. Assim, a formação de oxisteróis *in vivo*, foi apontada como uma estratégia para eliminar o colesterol em excesso no organismo [15]. Por outro lado, alguns autores apontaram a formação não enzimática de oxisteróis como sendo uma forma resultante do colesterol exercer uma actividade antioxidante *in vivo* [16, 17].

A formação enzimática de oxisteróis está relacionada com a homeostase do colesterol [18]. Por um lado, constitui uma via de remoção do colesterol do organismo, transformando-o em derivados oxidados que posteriormente são convertidos em diversos compostos, nomeadamente ácidos biliares. Por outro lado, os oxisteróis formados por via enzimática inibem a enzima hidroximetil glutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, enzima-chave da biossíntese do colesterol [19-21].

Porém, os oxisteróis são mais do que produtos do metabolismo do colesterol. De facto, sendo uma parte deles formados por via enzimática e tendo alguns a capacidade de se ligarem a determinadas proteínas com elevada

afinidade [22], é de esperar que a Natureza lhes tenha atribuído funções fisiológicas específicas.

Os oxisteróis têm atraído atenção devido ao seu envolvimento num grande número de fenómenos biológicos, sendo cada vez mais considerados importantes mediadores fisiológicos dos efeitos do colesterol *in vivo* [23-25]. Tem sido feito um grande esforço no sentido de identificar receptores celulares dos oxisteróis e de os correlacionar com as funções dos oxisteróis [22].

Os oxisteróis formados enzimaticamente participam na biossíntese dos ácidos biliares [26] e das hormonas esteróides [27-29], actuando também como lípidos de sinalização que regulam a biossíntese do colesterol, o efluxo do colesterol celular, a recaptação de lipoproteínas e o tráfico intracelular do colesterol [24].

## OXISTERÓIS E DOENÇA

Os oxisteróis têm sido implicados em diversas situações patológicas, em consequência das suas propriedades citotóxicas, oxidativas e pro-inflamatórias [30]. Para além do envolvimento dos oxisteróis na aterosclerose e nas doenças neurodegenerativas, como se discute em seguida, outras patologias, como a doença macular degenerativa [31], cataratas e osteoporose [30], parecem também estar associadas à presença de oxisteróis nos tecidos ou órgãos alvo.

### Aterosclerose

Actualmente, é amplamente aceite o envolvimento da hipercolesterolemia na aterosclerose.

O 7 $\beta$ -hidroxicoesterol, o 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxicoesterol e o 7-oxicoesterol encontram-se presentes na placa aterosclerótica em elevadas concentrações. Assim, o envolvimento dos oxisteróis formados por reacções oxidativas não enzimáticas na aterosclerose tem sido muito estudado [32, 33].

Os oxisteróis induzem apoptose em diversos tipos de células da vasculatura, existindo um elevado número de estudos acerca dos mecanismos sub-

iacentes à morte celular [24, 34]. Sendo a morte celular um dos principais eventos no desenvolvimento do atheroma [35], a indução de apoptose pelos oxisteróis pode ser um dos factores que contribuem para a aterosclerose. De igual forma, o envolvimento da peroxidação lipídica na aterogénese encontra-se amplamente documentado [36]. Os oxisteróis, sendo uma consequência da acção dos radicais livres de oxigénio, são também pro-oxidativos. Estudos em ratos indicam que a administração de oxisteróis conduz a um aumento da expressão e da actividade de enzimas antioxidantes e à redução das concentrações de glutatión total e reduzido, sugerindo uma interferência com os mecanismos de defesa antioxidante [37]. Noutro modelo, foi demonstrado que os oxisteróis induzem a activação da NADPH-oxidase, a libertação de ácido araquidónico e a produção de anião superóxido, contribuindo para a oxidação mediada pelas lipoproteínas de baixa densidade [38].

As áreas da vasculatura sujeitas a uma lesão aterosclerótica encontram-se num persistente estado de inflamação. Estudos *in vitro* revelaram que diversos oxisteróis estimulam a produção de interleucina-8, uma quimiocina associada à inflamação [39] e aumentam a expressão e a actividade de uma fosfolipase [40], apontando, assim, para uma actividade pro-inflamatória dos oxisteróis que contribui para a aterogénese.

Por fim, o envolvimento dos oxisteróis na aterosclerose está ainda relacionado com a sua contribuição para a formação de células esponjosas. O 7-oxicoesterol favorece *in vitro* a diferenciação dos monócitos e a formação daquelas células [41], bem como a acumulação intracelular de lípidos polares [42].

Assim, o envolvimento dos oxisteróis na aterogénese, embora controverso, não pode ser excluído e continuará a ser um importante tema de investigação [43].

### Doenças neurodegenerativas

Os oxisteróis têm sido implicados em doenças neurodegenerativas, como a

doença de Parkinson, de Alzheimer e a esclerose múltipla [44] e diversas linhas de investigação têm procurado esclarecer os efeitos *in vitro* e *in vivo* dos oxisteróis no cérebro, identificar possíveis alvos terapêuticos e identificar oxisteróis que possam funcionar como biomarcadores de doenças neurodegenerativas.

O cérebro é o órgão do corpo humano mais rico em colesterol [45]. A síntese de colesterol no cérebro é muito elevada nas primeiras etapas da vida, passando na idade adulta a ser pouco significativa [46]. Dada a sua importância fisiológica neste órgão, os elevados níveis cerebrais de colesterol são mantidos por mecanismos homeostáticos altamente eficientes. Diversos estudos epidemiológicos *in vitro* apontam para uma relação entre o *turnover* do colesterol e algumas doenças neurodegenerativas. De facto, a hipercolesterolemia é apontada como um factor de risco para as doenças de Alzheimer e de Parkinson. Embora a síntese *de novo* do colesterol no cérebro adulto seja muito lenta, este tem de possuir um mecanismo de excreção do colesterol, prevenindo a sua acumulação, uma vez que a barreira hematoencefálica não tem capacidade de estabelecer trocas de colesterol com outros tecidos e fluidos. Assim, a oxidação enzimática do colesterol a 24S-hidroxicolesterol, o qual tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, tem sido apontada como o principal mecanismo de eliminação do colesterol do cérebro [47-49].

Este oxisterol parece desempenhar um papel neuroprotector. Estudos *in vitro* mostram que inibe a formação de peptídeos A $\beta$  [50] e estimula a actividade da  $\alpha$ -secretase, diminuindo a deposição do peptídeo  $\beta$ -amilóide [51]. Além disso o 24S-hidroxicolesterol é um potente ligando endógeno do receptor LXR (*liver X receptor*) e a activação deste receptor está relacionada com efeitos anti-amiloidogénicos e anti-inflamatórios [52, 53].

Todavia, efeitos pró-inflamatórios, através da indução da expressão das enzimas ciclo-oxigenase e fosfolipase A2 em células neuronais foram reportados para o 24S-hidroxicolesterol

[54]. Mais recentemente, foram descritos efeitos neurotóxicos do mesmo oxisterol em modelos animais [55].

Por outro lado, o 27-hidroxicolesterol, não sendo produzido no cérebro, atravessa a barreira hematoencefálica e actua na regulação de diversas enzimas cerebrais. Estudos *in vitro* revelam que o 27-hidroxicolesterol está implicado na redução da actividade da proteína Arc, importante para a consolidação da memória [56] e diminui a actividade da  $\alpha$ -secretase [51]. Estudos *ex vivo* em doentes de Alzheimer revelaram um rácio aumentado de 27-hidroxicolesterol versus 24S-hidroxicolesterol [57]. Diversos autores apontam o 27-hidroxicolesterol como a chave para a relação epidemiológica entre hipercolesterolemia e doença de Alzheimer [59].

Outro derivado oxigenado do colesterol na cadeia lateral, o 25-hidroxicolesterol, exerce efeitos tóxicos no sistema nervoso central, nomeadamente, alteração da morfologia e apoptose de oligodendrócitos [58].

Adicionalmente, alguns oxisteróis são directamente neurotóxicos e contribuem para o agravamento das doenças neurodegenerativas. O 7 $\beta$ -hidroxicoesterol estimula a morte celular neuronal em concentrações nanomolares e diminui a actividade da  $\alpha$ -secretase [60].

Diversos estudos apontam para níveis elevados de oxisteróis em áreas do cérebro em estado de neuroinflamação após um dano excitotóxico. Por exemplo, o 7-oxocolesterol tem a capacidade de induzir morte neuronal por apoptose [61] e de despoletar a excitose e a libertação de neurotransmissores nas áreas afectadas, agravando a neuroinflamação [62].

## OXISTERÓIS COM POTENCIAL ACTIVIDADE TERAPÉUTICA

### Cancro

A potencial actividade antitumoral dos oxisteróis é conhecida de há muito. A citotoxicidade do 7 $\beta$ -hidroxicoesterol foi referida na década de 70 [13, 14, 63] e tem vinda a ser estudada para diferentes oxisteróis em diversas li-

nhas celulares tumorais e não-tumorais. Além disso, os oxisteróis têm sido usados na medicina popular [64-66], o que corrobora a sua potencial utilidade como agentes antitumorais.

Diversos estudos descrevem o efeito citotóxico dos oxisteróis em linhas celulares da vasculatura, procurando relacionar esse efeito com a aterosclerose [24, 32-34, 42]. Por outro lado, muitos estudos reportam os efeitos citotóxicos destes compostos em linhas celulares de cancro, sendo estes dependentes da estrutura do oxisterol, da sua concentração, da linha celular em estudo e do tempo de incubação [34, 67].

A capacidade de induzir morte celular, sobretudo por apoptose, tem sido demonstrada em diversas linhas celulares tumorais e não-tumorais [44, 67-69], embora a morte celular por necrose tenha também sido demonstrada em alguns casos [70-72].

Em geral, os oxisteróis oxigenados no núcleo esteróide são mais citotóxicos e mais potentes na indução de apoptose do que os oxisteróis oxigenados na cadeia lateral [73-76], os quais exercem o seu efeito sobretudo através da inibição da síntese do colesterol.

Adicionalmente, diversos análogos oxigenados do colesterol têm sido isolados de organismos marinhos, alguns dos quais foram sintetizados e os seus efeitos citotóxicos estudados [77-84] (Figura 3).

O nosso grupo sintetizou e avaliou 8 oxisteróis endógenos em células HT29 (de adenocarcinoma do cólon) e ARPE-19 (do epitélio pigmentado da retina). Pela primeira vez, a actividade citotóxica destes derivados oxigenados nos anéis A e B foi estudada sob as mesmas condições experimentais, permitindo uma comparação da sua potência e selectividade [85]. Adicionalmente, a influência da posição e da estereoquímica do grupo epóxido no anel A ou B, bem como da presença de outros grupos oxigenados, foram estudadas após síntese químico-enzimática de uma biblioteca de epóxidos epimericamente puros [86]. A síntese de um conjunto mais vasto de esterói-

des oxigenados permitiu tirar conclusões acerca do tipo de cadeia lateral e tipo de substituintes no anel B capazes de fornecer oxisteróis sintéticos com maior potência e selectividade para células tumorais [85]. As relações estrutura-actividade encontram-se sumariadas na Figura 4.

Adicionalmente, os oxisteróis aumentam a sensibilidade das células tumorais à radioterapia [87, 88] e à quimioterapia [88]. No nosso grupo, foi estudado o efeito do colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol na citotoxicidade da doxorubicina numa linha celular tumoral e noutra não-tumoral, tendo-se verificado que uma concentração não tóxica do oxisterol consegue diminuir para metade o IC<sub>50</sub> da doxorubicina nas células tumorais sem afectar as células não-tumorais [85].

É conhecido que os oxisteróis estão envolvidos quer na proliferação quer

na morte celular. Todavia, os mecanismos responsáveis pela citotoxicidade dos oxisteróis estão longe de estar esclarecidos.

Os oxisteróis mais comuns interferem com a estrutura da membrana celular e com receptores celulares [69, 89], inibem a biossíntese do colesterol [14, 24, 90] e do DNA [91, 92], podendo estes efeitos contribuir para a sua citotoxicidade.

Por outro lado, uma vez que o colesterol é essencial para a progressão da mitose [93], a modulação da síntese do colesterol e a competição com o colesterol para a membrana celular, podem justificar a citotoxicidade dos oxisteróis [93, 94].

Os efeitos dos oxisteróis na biofísica membranar, alterando a fluidez e a permeabilidade, interferindo com as proteínas membranares e, deste

modo, com o funcionamento da célula, são também factores a ter em conta no esclarecimento dos mecanismos de citotoxicidade dos oxisteróis e na explicação da diferente susceptibilidade das linhas celulares aos efeitos tóxicos dos oxisteróis [69, 95-97].

## Medicina regenerativa

Os oxisteróis participam na morfogénese [98] através da via de sinalização de Hedgehog [99, 100], a qual tem um papel chave no desenvolvimento pós-embriónico, na homeostase dos tecidos adultos e na fisiologia das células estaminais [101].

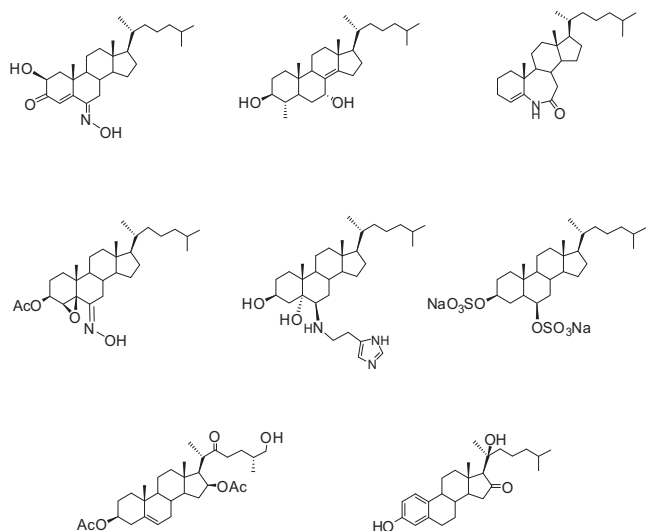
A activação da via de sinalização de Hedgehog em células estaminais pelo 20S-hidroxicoesterol resulta na inibição da adipogénese e no favorecimento da osteogénese [102]. Estudos *in vitro* e em modelos animais demonstraram que o 22R- e o 22S-hidroxicoesterol induzem a diferenciação osteoblástica de células estaminais, bem como a formação de tecido ósseo *in vivo* [103].

Estes efeitos fisiológicos dos oxisteróis têm grande importância na formação, homeostase e reparação dos tecidos e revelam um potencial terapêutico que começa a ser explorado. Recentemente, uma biblioteca de compostos estruturalmente relacionados com os oxisteróis foi sintetizada e novas moléculas promotoras da osteogénese foram identificadas [104].

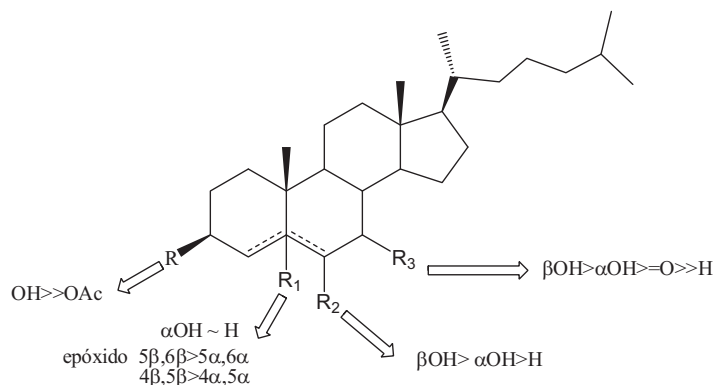
## PERSPECTIVAS FUTURAS

Os oxisteróis são importantes reguladores dos *rafts* lipídicos [105, 106], estão envolvidos na inflamação [39, 40], possuem propriedades imunossupressoras [107-109], foram referidos como antifúngicos [110] e antivirais [111], continuando assim a ser muito estudados [3, 112].

A correlação das estruturas moleculares dos oxisteróis com as suas actividades biológicas permite estabelecer uma relação entre a química e a química biológica destes compostos e permitirá no futuro desenvolver estratégias terapêuticas baseadas nos oxisteróis e seus alvos celulares.



**Figura 3** – Estruturas de novos oxisteróis recentemente sintetizados com citotoxicidade relevante



**Figura 4** – Representação gráfica das relações estrutura - actividade citotóxica dos oxisteróis, com base nos resultados de IC<sub>50</sub> em células tumorais



## REFERÊNCIAS

- [1] L. L. Smith, *Chem. Phys. Lipids* **44** (1987) 87-125.
- [2] M. Yamaguchi, Y. Endo, M. Shimizu, K. Yamamoto, S. Yamada, K. Shudo, *Biol. Pharm. Bull.* **20** (1997) 1044-1046.
- [3] I. Björkhem, U. Diczfalusy, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **22** (2002), 734-742.
- [4] A. V. Antonchick, V. N. Zhabinskii, V. A. Khripach, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **33** (2007) 275-287.
- [5] R. C. Murphy, K. M. Johnson, *J. Biol. Chem.* **283** (2008) 15521-15525.
- [6] A. J. Brown, W. Jessup, *Mol. Aspects Med.* **30** (2009) 111-122.
- [7] S. Lieberman, Y. Y. Lin, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **78** (2001) 1-14.
- [8] J. W. Newman, C. Morisseau, B. D. Hammock, *Prog. Lipid Res.* **44** (2005) 1-51.
- [9] R. A. S. Schweizer, M. Zürcher, Z. Balazs, B. Dick, A. Odermatt, *J. Biol. Chem.* **279** (2004) 18415-18424.
- [10] M. Hult, B. Elleby, N. Shafqat, S. Svensson, A. Rane, H. Jörnvall, L. Abrahmsen, U. Oppermann, *Cell. Mol. Life Sci.* **61** (2004) 992-999.
- [11] M. A. Lyons, S. Samman, L. Gatto, A. J. Brown, *J. Lipid Res.* **40** (1999) 1846-1857.
- [12] G. A. Haslewood, *Biochem. J.* **33** (1939) 709-712.
- [13] H. W. Chen, A. A. Kandutsch, C. Waymouth, *Nature* **251** (1974) 419-421.
- [14] A. A. Kandutsch, H. W. Chen, H.-J. Heiniger, *Science* **201** (1978) 498-501.
- [15] E. Lund, O. Andersson, J. Zhang, A. Babiker, G. Ahlborg, U. Diczfalusy, K. Einarsson, J. Sjövall, I. Björkhem, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **16** (1996) 208-212.
- [16] L. L. Smith, *Free Radical Biol. Med.* **11** (1991) 47-61.
- [17] H. Girao, C. Mota, P. Pereira, *Curr. Eye Res.* **18** (1999) 448-454.
- [18] S. Gill, R. Chow, A. J. Brown, *Prog. Lipid Res.* **47** (2008) 391-404.
- [19] A. Radhakrishnan, Y. Ikeda, H. J. Kwon, M. S. Brown, J. L. Goldstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104** (2007) 6511-6518.
- [20] L.-P. Sun, J. Seemann, J. L. Goldstein, M. S. Brown, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104** (2007) 6519-6526.
- [21] Y. Wang, P. M. Rogers, C. Su, G. Varga, K. R. Stayrook, T. P. Burris, *J. Biol. Chem.* **283** (2008) 26332-26339.
- [22] V. M. Olkkonen, *Lipids Insights* **2** (2008) 1-9.
- [23] R. C. Murphy, K. M. Johnson, *J. Biol. Chem.* **283** (2008) 15521-15525.
- [24] G. J. J. Schroepfer, *Physiol. Rev.* **80** (2000) 361-554.
- [25] I. Björkhem, *J. Clin. Invest.* **110** (2002) 725-730.
- [26] M. Fuchs, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **284** (2003) G551-G557.
- [27] S. Lieberman, Y. Y. Lin, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **78** (2001) 1-14.
- [28] L. K. Christenson, J. M. McAllister, K. O. Martin, N. B. Javitt, T. F. Osborne, J. F. Strauss, *J. Biol. Chem.* **273** (1998) 30729-30735.
- [29] S. R. King, A. A. Matassa, E. K. White, L. P. Walsh, Y. Jo, R. M. Rao, D. M. Stocco, M. E. Reyland, *J. Mol. Endocrinol.* **32** (2004) 507-517.
- [30] G. Schwartzmann, M. J. Ratain, G. M. Cragg, J. E. Wong, N. Saijo, D. R. Parkinson, Y. Fujiwara, R. Pazdur, J. Newman, R. Dagher, L. Di Leone, *J. Clin. Oncol.* **20** (2002) 47s-59s.
- [31] I. R. Rodriguez, I. M. Larrayoz, *J. Lipid Res.* **51** (2010) 2847-2862.
- [32] A. J. Brown, W. Jessup, *Atherosclerosis* **142** (1999) 1-28.
- [33] G. Poli, B. Sottero, S. Gargiulo, G. Leonarduzzi, *Mol. Aspects Med.* **30** (2009) 180-189.
- [34] S. R. Panini, M. S. Sinensky, *Curr. Op. Lipidol.* **12** (2001) 529-533.
- [35] E. Falk, *J. Am. Coll. Cardiol.* **47** (2006) 7-12.
- [36] R. Stocker, J. F. Keaney, *Physiological Rev.* **84** (2004) 1381-1478.
- [37] R. Ringseis, K. Eder, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **74** (2004) 86-92.
- [38] M. Rosenblatt, M. Aviram, *Atherosclerosis* **160** (2002) 69-80.
- [39] S. Lemaire-Ewing, C. Prunet, T. Montange, A. Vejux, A. Berthier, G. Bessedé, L. Corcos, P. Gambert, D. Neel, G. Lizard, *Cell Biol. Toxicol.* **21** (2005) 97-114.
- [40] V. Antonio, B. Janvier, A. Brouillet, M. Andreani, M. Raymondjean, *Biochem. J.* **376** (2003) 351-360.
- [41] J. M. Hayden, L. Brachova, K. Higgins, L. Obermiller, A. Sevanian, S. Khandrika, P. D. Reaven, *J. Lipid Res.* **43** (2002) 26-35.
- [42] A. Vejux, E. Kahn, F. Ménétrier, T. Montange, J. Lherminier, J.-M. Riedinger, G. Lizard, *Histochem. Cell. Biol.* **127** (2007) 609-624.
- [43] G. Poli, B. Sottero, S. Gargiulo, G. Leonarduzzi, *Molec. Asp. Med.* **30** (2009) 180-189.
- [44] A. Vejux, G. Lizard, *Mol. Aspects Med.* **30** (2009) 153-170.
- [45] I. Björkhem, S. Meaney, *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* **24** (2004) 806-815.
- [46] J. M. Dietschy, S. D. Turley, *J. Lipid Res.* **45** (2004) 1375-1397.
- [47] D. Lutjohann, O. Breuer, G. Ahlborg, I. Nennesmo, A. Siden, U. Diczfalusy, I. Björkhem, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93** (1996) 9799-9804.
- [48] I. Björkhem, D. Lutjohann, O. Breuer, A. Sakinis, A. Wennmalm, *J. Biol. Chem.* **272** (1997) 30178-30184.
- [49] D. W. Russell, R. W. Halford, D. M. O. Ramirez, R. Shah, T. Kotti, *Ann. Rev. Biochem.* **78** (2009) 1017-1040.
- [50] J. Brown, C. Theisler, S. Silberman, D. Magnuson, N. Gottardi-Littell, J. M. Lee, D. Yager, J. Crowley, K. Sambamurti, M. M. Rahman, A. B. Reiss, C. B. Eckman, B. Wolozin, *J. Biol. Chem.* **279** (2004) 34674-34681.
- [51] D. Famer, S. Meaney, M. Mousavi, A. Nordberg, I. Björkhem, M. Crisby, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **359** (2007) 46-50.
- [52] B. A. Janowski, M. J. Grogan, S. A. Jones, G. B. Wisely, S. A. Kiewer, E. J. Corey, D. J. Mangelsdorf, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96** (1999) 266-271.
- [53] G. Cao, K. R. Bales, R. B. Demattos, S. M. Paul, *Curr. Alzheimer Res.* **4** (2007) 179-184.
- [54] P. Alexandrov, J. G. Cui, Y. H. Zhao, W. J. Lukiw, *Neuroreport* **16** (2005) 909-913.
- [55] S. Zhao, W. Liao, N. Xu, H. Xu, C. Yu, X. Liu, C. Li, *Neuroscience* **164** (2009) 398-403.
- [56] L. Mateos, S. Akterin, F. J. Gil-Bea, S. Spulber, A. Rahman, I. Björkhem, M. Schultzberg, A. Flores-Morales, A. Cedazo-Minguez, *Brain Pathology* **19** (2009) 69-80.
- [57] M. Heverin, N. Bogdanovic, D. Lutjohann, T. Bayer, I. Pikuleva, L. Bretillon, U. Diczfalusy, B. Winblad, I. Björkhem, *J. Lipid Res.* **45** (2004) 186-193.
- [58] A. Trousson, S. Bernard, P. X. Petit, P. Liere, A. Pianos, K. El Hadri, J. M. Lobaccaro, M. Said Ghandour, M. Raymondjean, M. Schumacher, C. Massaad, *J. Neurochem.* **109** (2009) 945-958.
- [59] M. Stefani, G. Liguri, *Curr. Alzheimer Res.* **6** (2009) 15-29.
- [60] T. J. Nelson, D. L. Alkon, *J. Biol. Chem.* **280** (2005) 7377-7387.
- [61] E. R. Jang, C. S. Lee, *Neurochem. Int.* **58** (2011) 52-59.

- [62] M. T. Ma, J. Zhang, A. A. Farooqui, P. Chen, W. Y. Ong, *Neurosc. Lett.* **476** (2010) 36-41.
- [63] S. K. Peng, C. B. Taylor, P. Tham, N. T. Werthessen, B. Mikkelsen, *Arch. Pathol. Lab. Med.* **102** (1978) 57-61.
- [64] K. P. Cheng, H. Nagano, B. Luu, G. Ourisson, J. P. Beck, *J. Chem. Res.* **217** (1977) 2501-2521.
- [65] J. Nagano, J. P. Poyser, K. P. Cheng, B. Luu, G. Ourisson, J. P. Beck, *J. Chem. Res.* **218** (1977) 2522-2571.
- [66] M. Zander, K. Patrick, L. Bang, G. Ourisson, *J. Chem. Res.* **219** (1977) 2572-2584.
- [67] L. Ryan, Y. C. O'Callaghan, N. M. O'Brien, *Curr. Nutr. Food Sci.* **1** (2005) 41-51.
- [68] T. Wielkoszynski, K. Gawron, J. Strzelczyk, P. Bodzek, M. Zalewska-Ziob, G. Trapp, M. Srebnik, A. Wiczowski, *BioEssays* **28** (2006) 387-398.
- [69] S. Lordan, J. J. Mackrill, N. M. O'Brien, *J. Nutr. Biochem.* **20** (2009) 321-336.
- [70] A. Rimner, S. Al Makdessi, H. Sweidan, J. Wischhusen, B. Rabenstein, K. Shatat, P. Mayer, L. Spyridopoulos, *Free Radic. Biol. Med.* **38** (2005) 535-544.
- [71] G. Lizard, S. Monier, C. Cordelet, L. Gesquiere, V. Deckert, S. Gueldry, L. Lagrost, P. Gamber, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **19** (1999) 1190-1200.
- [72] Y. C. O'Callaghan, J. A. Woods, N. M. O'Brien, *Toxicol. in Vitro* **16** (2002) 245-251.
- [73] S. Lemaire-Ewing, C. Prunet, T. Montange, A. Vejux, A. Berthier, G. Bessède, L. Corcos, P. Gamber, D. Néel, G. Lizard, *Cell Biol. Toxicol.* **21** (2005) 97-114.
- [74] G. Lizard, V. Deckert, L. Dubrez, M. Moisan, P. Gamber, L. Lagrost, *Am. J. Pathol.* **148** (1996) 1625-1638.
- [75] J. Y. Chang, L.-Z. Liu, *Curr. Eye Res.* **17** (1998) 95-103.
- [76] A. J. O'Sullivan, Y. C. O'Callaghan, J. A. Woods, N. M. O'Brien, *J. Appl. Toxicol.* **23** (2003) 191-197.
- [77] N. Deive, J. Rodríguez, C. Jiménez, *J. Med. Chem.* **44** (2001) 2612-2618.
- [78] L. He, Y. Liu, J. Shi, Q. Pei, *Steroids* **71** (2006) 476-483.
- [79] N. M. Krstic, M. S. Bjelakovic, Z. Zizak, M. D. Pavlovic, Z. D. Juranic, V. D. Pavlovic, *Steroids* **72** (2007) 406-414.
- [80] J. Poza, M. Rega, V. Paz, B. Alonso, J. Rodríguez, N. Salvador, A. Fernández, C. Jiménez, *Bioorg. Med. Chem.* **15** (2007) 4722-4740.
- [81] P. de Medina, M. R. Paillasse, B. Payré, S. Silvente-Poirot, M. Poirot, *J. Med. Chem.* **52** (2009) 7765-7777.
- [82] J. Cui, H. Wang, Y. Huang, Y. Xin, A. Zhou, *Steroids* **74** (2009) 1057-1060.
- [83] M. A. Fernández-Herrera, H. López-Muñoz, J. M. V. Hernández-Vázquez, M. López-Dávila, M. L. Escobar-Sánchez, L. Sánchez-Sánchez, B. M. Pinto, J. Sandoval-Ramírez, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 2474-2484.
- [84] P. Bunyathaworn, S. Boonananwong, B. Kongkathip, N. Kongkathip, *Steroids* **75** (2010) 432-444.
- [85] J. F. S. Carvalho, M. M. Cruz Silva, J. N. Moreira, S. Simões, M. L. Sá e Melo, *J. Med. Chem.* **53** (2010) 7632-7638.
- [86] J. F. S. Carvalho, M. M. Cruz Silva, J. N. Moreira, S. Simões, M. L. Sá e Melo, *J. Med. Chem.* **52** (2009) 4007-4019.
- [87] K. G. David, B. F. Jim, P. S. Hans, F. S. Mark, S. Fritz, *Photochem. Photobiol.* **54** (1991) 717-723.
- [88] J. W. Hyun, V. Holl, D. Weltin, P. Dufour, B. Luu, P. Bischoff, *Anticancer Res.* **22** (2002) 943-948.
- [89] V. M. Oikkonen, R. Hynynen, *Mol. Aspects Med.* **30** (2009) 123-133.
- [90] A. Radhakrishnan, Y. Ikeda, H. Kwon, M. Brown, J. Goldstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104** (2007) 6511-6518.
- [91] M. Astruc, S. Roussillon, R. Defay, B. Descomps, A. C. de Paulet, *Biochim. Biophys. Acta* **763** (1983) 11-18.
- [92] C. Ishimaru, Y. Yonezawa, I. Kuriyama, M. Nishida, H. Yoshida, Y. Mizushima, *Lipids* **43** (2008) 373-382.
- [93] C. Fernández, M. V. T. Lobo, D. Gómez-Coronado, M. A. Lasunción, *Exp. Cell Res.* **300** (2004) 109-120.
- [94] M. S. Brown, J. L. Goldstein, *J. Biol. Chem.* **249** (1974) 7306-7314.
- [95] J. B. Massey, H. J. Pownall, *Biochemistry* **45** (2006) 10747-10758.
- [96] D. Marsh, *Biochim. Biophys. Acta* **1778** (2008) 1545-1575.
- [97] C. Yuan, R. J. O'Connell, R. F. Jacob, R. P. Mason, S. N. Treistman, *J. Biol. Chem.* **282** (2007) 7276-7286.
- [98] N. B. Javit, *Steroids* **73** (2008) 149-157.
- [99] J. R. Dwyer, N. Sever, M. Carlson, S. F. Nelson, P. A. Beachy, F. Parhami, *J. Biol. Chem.* **282** (2007) 8959-8968.
- [100] H. T. Kha, B. Basseri, D. Shouhed, J. Richardson, S. Tetradis, T. J. Hahn, F. Parhami, *J. Bone Miner. Res.* **19** (2004) 830-840.
- [101] F. Simpson, M. C. Kerr, C. Wicking, *Mechan. Develop.* **126** (2009) 279-288.
- [102] J. R. Dwyer, N. Sever, M. Carlson, S. F. Nelson, P. A. Beachy, F. Parhami, *J. Biol. Chem.* **282** (2007) 8959-8968.
- [103] T. L. Aghaloo, C. M. Amantea, C. M. Cowan, J. A. Richardson, B. M. Wu, F. Parhami, S. Tetradis, *J. Orthop. Res.* **25** (2007) 1488-1497.
- [104] F. Parhami, M. E. Jung, K. Nguyen, D. Yoo, W.-K. Kim, *Un. States Patent Applic.* US 2011/0008297 A1
- [105] J. B. Massey, H. J. Pownall, *Biochemistry* **44** (2005) 10423-10433.
- [106] J. B. Massey, H. J. Pownall, *Biochemistry* **45** (2006) 10747-10758.
- [107] C. Moog, B. Luu, J.-P. Beck, L. Italiano, P. Bischoff, *Int. J. Immunopharmacol.* **10** (1988) 511-518.
- [108] C. Moog, Y. H. Ji, C. Waltzinger, B. Luu, P. Bischoff, *Immunology* **70** (1990) 344-350.
- [109] P. L. Bischoff, V. Holl, D. Coelho, P. Dufour, B. Luu, D. Weltin, *Curr. Med. Chem.* **7** (2000) 693-713.
- [110] J. M. Brunel, C. Loncle, N. Vidal, M. Dherbomez, Y. Letourneux, *Steroids* **70** (2005) 907-912.
- [111] C. Moog, A. M. Aubertin, A. Kim, B. Luu, *Antivir. Chem. Chemother.* **9** (1998) 491-496.
- [112] C. Garenc, P. Julien, E. Levy, *Free Rad. Res.* **44**, (2010) 47-73.

