



Macrófagos de fenótipo M1 e M2 associados à disfunção endotelial¹

Anne Carolline dos Santos Graça²; José Wilson do Nascimento Corrêa³

Resumo

Resultados de estudos envolvendo a polarização de macrófagos evidenciam a associação de seus diferentes fenótipos com a disfunção endotelial, entre outras doenças cardiovasculares. Atualmente, existem dois fenótipos de macrófagos bem descritos, os macrófagos classicamente ativados (M1), também conhecidos como macrófagos pró-inflamatórios e os alternativamente ativados (M2), conhecidos como macrófagos anti-inflamatórios. Estudos indicam que a presença de macrófagos do subtipo M1 aumenta a produção de citocinas inflamatórias, como o TNF α , o que leva a uma série de alterações inflamatórias no tecido vascular. Essas alterações contribuem para a ativação do endotélio, disfunção endotelial e até mesmo à hipertensão arterial. Por outro lado, a presença de macrófagos M2 tem sido relacionada à redução da disfunção endotelial, promovendo melhora da função do endotélio e diminuição na pressão arterial, porém, em grande número, podem promover fibrose e remodelamento tecidual. Essas informações tornam-se importantes, essencialmente pela possibilidade de fundamentar o desenvolvimento de novos elementos terapêuticos no combate das doenças vasculares. Assim sendo, o objetivo desta revisão é relatar os principais avanços científicos que apontam para a relação de macrófagos M1 e M2 associados à disfunção endotelial.

Palavras-Chave: disfunção endotelial, macrófagos M1, macrófagos M2, polarização de macrófagos, plasticidade de macrófagos.

Phenotype macrophages M1 and M2 associated with endothelial dysfunction. Results of studies involving macrophage polarization have evidenced the association for its different phenotypes with endothelial dysfunction, among other cardiovascular diseases. Currently, there are two well-defined macrophage phenotypes, classically activated macrophages (M1), also known as pro-inflammatory macrophages and the alternatively activated macrophages (M2), known for its anti-inflammatory abilities. Such studies indicate that the presence of M1 macrophages increases the production of inflammatory cytokines, such as TNF- α , which leads to many inflammatory non-vascular tissue changes. These contribute to endothelial activation, endothelial dysfunction, and even hypertension. On the other hand, the presence of M2 macrophages has been associated with the improvement on endothelial dysfunction, in a way they can restore endothelial function and reduce blood pressure. However, a large population of M2 macrophages on tissues can induce fibrosis and tissue remodeling. Thus, this review highlights valuable information about the relationship between macrophage plasticity and vascular function, supporting the development of new therapeutic elements against vascular diseases. Thus, the objective of this review is to report the main scientific advances that point to the relationship of M1 and M2 macrophages associated with endothelial dysfunction.

Key-words: endothelial dysfunction, M1 macrophages, M2 macrophages, macrophage polarization, macrophage plasticity.

¹ Parte da dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil.

² Aluna do Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Octávio, 6.200, Coroado II, Manaus, Amazonas, Brasil. Email: carollinebio@gmail.com

³ Professor Doutor do Laboratório de Farmacologia Experimental, Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Octávio, 6.200, Coroado II, Manaus, Amazonas, Brasil. Email: jwcorrea@ufam.edu.br



1. Introdução

Inicialmente, os primeiros fenótipos de macrófagos a serem descritos foram: macrófagos classicamente ativados (chamados de M1) (NATHAN et al., 1983) e os macrófagos alternativamente ativados (chamados de M2) (NORTH, 1973). Acreditava-se que estes seriam os únicos fenótipos existentes. Posteriormente, estudos de Mosser e Edwards (2008) observando o espectro completo de ativação dos macrófagos, relataram que M1 e M2 seriam somente as extremidades deste espectro. Logo, haveria outros fenótipos de macrófagos a serem descritos. A partir de 2010, novos fenótipos foram descobertos e descritos, como: macrófagos M4, induzidos por ligante de quimiocinas derivadas de plaquetas 4 (CXCL4) (DOMSCHKE e GLEISSNER, 2017); macrófagos M (Hb) e Mhem, induzidos por exposição aos complexos de hemoglobina-haptoglobina; e macrófagos Mox, induzidos por exposição a fosfolipídios oxidados (BOYLE et al., 2009; GLEISSNER et al., 2010; KADL et al., 2010).

Os diferentes fenótipos de macrófagos têm sido alvo de estudos que demonstram sua associação com a manutenção de patologias como a hipertensão arterial (WENZEL et al., 2011; KOSSMANN et al., 2014; KARUNAKARAN et al., 2017), diabetes mellitus (WANG et al., 2017), aterosclerose (LAHOZ e MOSTAZA, 2007; DE PAOLI et al., 2014) e obesidade (KAWANISHI et al., 2010; LAUTERBACH e WUNDERLICH, 2017). Em tais patologias, observa-se, em geral, a instalação de um processo de disfunção endotelial como resultado de lesão endotelial, redução na biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), desacoplamento da eNOS, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), inibição de sistemas antioxidantes, ativação endotelial e migração celular (KAWANISHI et al., 2010; WENZEL et al., 2011; DE PAOLI et al., 2014; KOSSMANN et al., 2014; WANG et al., 2017). Segundo estes estudos, a progressão destas patologias é oriunda de

um estado de inflamação crônica, onde os macrófagos possuem papel importante. A presença de macrófagos M1 promove elevação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (LANDRY et al., 1997). Mantovani e colaboradores (2009) apontam que a presença do TNF α ativa o fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB) favorecendo a ativação endotelial, que resulta em aumento na expressão de moléculas de adesão e migração de leucócitos, gerando uma série de alterações inflamatórias no tecido vascular. Além disso, demonstrou-se que macrófagos M1 são atuantes na produção de ROS, contribuindo para o quadro de estresse oxidativo e redução na biodisponibilidade de NO (LASKIN et al., 2011). Estes estudos reforçam a ideia de que macrófagos de fenótipo pró-inflamatório poderiam estar diretamente relacionados ao processo de disfunção endotelial (KOSSMANN et al., 2013).

Patologias como o diabetes mellitus apresentam disfunção endotelial caracterizada pela perda do papel modulador do endotélio. Observa-se que a vasodilatação mediada pelo NO derivado do endotélio é prejudicada em modelos experimentais de diabetes e em pacientes diabéticos dependentes ou não de insulina (DE PAOLI et al., 2014). Os mecanismos pelos quais o diabetes contribui para a disfunção endotelial ainda estão sendo investigados, todavia é provável que a hiperglicemia, característica do diabetes mellitus, possa iniciar essa anormalidade. A disfunção endotelial induzida por hiperglicemia pode resultar da diminuição da produção de NO, inativação de NO por ROS e aumento da produção de fatores contráteis derivados do endotélio (TEIXEIRA et al., 2014).

Além do diabetes mellitus, a hipertensão arterial também tem sido associada à disfunção endotelial desencadeada a partir de vários fatores, dependendo do tipo de hipertensão



desenvolvida, da sua duração e do modelo de estudo. Todavia, a disfunção endotelial na hipertensão é caracterizada pela redução na liberação de NO, diminuição da sensibilidade do músculo liso vascular ao NO, disfunção nas vias de transdução de sinais dos fatores relaxantes endoteliais, aumento na produção de fatores contráteis endoteliais e na produção de ânions superóxido (CARVALHO et al., 2001).

Assim como no diabetes mellitus (COSENTINO e LÜSCHER, 1998), na hipertensão arterial (CARVALHO et al., 2001; WENZEL et al., 2011), na aterosclerose (MOSSER e EDWARDS, 2008) e em outras doenças cardiovasculares, a disfunção endotelial é caracterizada pela ativação das células endoteliais, culminando em quadros pró-inflamatórios, pró-trombóticos e de prejuízo das respostas vasodilatadoras endotélio-dependentes (ENDEMANN e SCHIFFRIN, 2004). Inicialmente, o endotélio era conhecido apenas como uma monocamada de células que cobrem o lúmen vascular. Em 1980, Furchgott e colaboradores relataram a presença de um fator relaxante derivado do endotélio vascular liberado pela acetilcolina, posteriormente identificado como óxido nítrico. Desde então, diversas descobertas têm contribuído com o entendimento de que o endotélio vascular exerce não apenas um papel anatômico importante, mas contribui ativamente para a regulação da função vascular e fisiologia do sangue. Atualmente sabe-se que o endotélio vascular controla o fluxo de moléculas e células através da parede vascular, mantém a estrutura da parede dos vasos, regula o tônus vascular, além de participar em processos de angiogênese e de produção de mediadores que interferem com o crescimento, a atividade, a migração e a morte de células do músculo liso vascular (PERTICONE et al., 2001; DEANFIELD et al., 2007; VINH et al., 2010). Assim sendo, atribui-se ao endotélio vários papéis importantes, tanto em eventos fisiológicos quanto fisiopatológicos.

Deste modo, a presente revisão tem como objetivo reunir e relatar os principais

estudos científicos relacionados a macrófagos M1 e M2 associados à disfunção endotelial, bem como os fatores que parecem contribuir para a polarização de macrófagos entre estes diferentes fenótipos.

2. Metodologia

Para elaboração desta revisão, realizou-se um levantamento bibliográfico utilizando as palavras-chave: “endothelial dysfunction”, “M1 macrophage”, “M2 macrophage”, “polarization of macrophages”, “endothelium function”, “macrophage plasticity”, “macrophage phenotype” e “função e disfunção endotelial”. A pesquisa foi realizada nos seguintes sites de busca: Google Acadêmico, Periódicos Capes, Pubmed, SciELO, ScienceDirect, Scopus e Web of Science.

O período de busca de artigos científicos compreendeu os anos de 1905 a 2017. Como critério de inclusão foram pré-selecionados artigos de revisão, metanálise e de estudos experimentais, totalizando 365 artigos pré-selecionados. Por meio da avaliação do título e dos resumos, 71 artigos foram utilizados na presente revisão, tendo como critério de exclusão os artigos relacionados a estudos da atividade de macrófagos em associação a outros tipos celulares e de mediadores não produzidos por macrófagos.

3. Revisão bibliográfica

3.1 Perspectiva histórica dos macrófagos e sua polarização

A primeira descrição para os macrófagos ocorreu em 1883, quando Elie Metchnikoff (1845-1916) descreveu pela primeira vez os fagócitos (palavra grega que significa “células que comem”) a partir da observação de células de estrelas (Echinodermata) e esponjas do mar (Porifera) capazes de fagocitar partículas e espinhos (METCHNIKOFF, 1905). Posteriormente, descobriu-se que estas células eram eficazes na eliminação de patógenos, tanto em invertebrados quanto em vertebrados (MOSMANN e



COFFMAN, 1989). Metchnikoff também foi o responsável pela base do conceito de ativação dos macrófagos, quando em 1905, relatou que os macrófagos de animais infectados possuíam uma maior capacidade microbicida.

Por volta de seis décadas depois, o mecanismo de eliminação de patógenos pelos macrófagos foi gradativamente esclarecido, porém, ainda não era claro como os macrófagos tinham sua capacidade fagocítica melhorada frente a uma infecção.

Em 1973, estudos como o de North e colaboradores revelaram que existiam fatores celulares independentes, isto é, sem o envolvimento de agentes patogênicos, que promoveriam a ativação dos macrófagos. Em seus estudos, David (1973) sugeriu que os linfócitos seriam as principais células responsáveis pela ativação dos macrófagos, o que aumentaria sua capacidade microbicida.

Trabalhos posteriores identificaram o interferon-gama ($IFN\gamma$), secretado pelos linfócitos, como sendo o principal fator de interação com os macrófagos (NATHAN, 1983). Assim sendo, este seria o responsável pela ativação de macrófagos em repouso, uma vez que ao interagir com os mesmos, promovia aumento do potencial fagocítico, da secreção de citocinas pró-inflamatórias e de mediadores tóxicos como ROS (PERTICONE et al., 2001). Este foi o primeiro mecanismo de ativação descrito para estas células, de tal modo que macrófagos ativados desta forma passaram a ser chamados de macrófagos classicamente ativados ou macrófagos M1.

Com o avanço das pesquisas com células imunitárias, em 1989, surgiu o conceito de heterogeneidade de células T helper (Th), propondo-se o conceito de Th1 e Th2 (MOSMANN e COFFMAN, 1989).

A partir disto, investigou-se as citocinas produzidas por esses tipos de linfócitos. Abramson e colaboradores (1990) descreveram a interleucina-4 (IL-4), secretada por linfócitos Th2, como sendo um fator de ativação dos macrófagos. Porém, esta nova forma de ativação induziria os macrófagos a uma polarização diferente da

descrita anteriormente, a clássica. A ativação de macrófagos por IL-4 os induziria a adquirir um fenótipo distinto, com produção de ROS diminuída e aumento na expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe 2 (MHC-2), características estas divergentes do fenótipo M1.

Estudos de Stein e colaboradores (1992), corroboraram com os estudos de Abramson (1990), ao descobrir que tanto IL-4 quanto IL-13 interagiam com os macrófagos pelo receptor de manose 1 (MCR1), expresso na superfície celular destes. Esta interação seria a responsável pelo aumento na expressão de MHC-2, além de desenvolver características fenotípicas diferentes de M1. Sendo assim, desenvolveu-se o conceito de macrófagos alternativamente ativados, também ditos macrófagos M2.

Com o avanço das pesquisas, Mosser e Edwards (2008) sabendo que a plasticidade dos macrófagos resultava dos diferentes estímulos presente no microambiente no qual ele estava inserido, passaram a analisar o espectro completo de ativação dos macrófagos, como resultado, eles apontaram que M1 e M2 não eram os únicos fenótipos existentes.

Atualmente, estudos têm colaborado para elucidação desta polarização. Em 2010, Gleissner e colaboradores (2010) e Kadl e colaboradores (2010) descreveram dois novos fenótipos de macrófagos denominados de M4 e Mox. Além disto, múltiplas descobertas têm demonstrado como esses diferentes tipos de fenótipos podem estar diretamente associados ao desenvolvimento de patologias, a exemplo da aterosclerose (LUZ et al., 2003), diabetes mellitus (COSENTINO e LÜSCHER, 1998), hipertensão arterial (CARVALHO et al., 2001), asma (MOREIRA e HOGABOAM, 2011), infecções por diferentes patógenos (LIU et al., 2014; ZHAO et al., 2017), entre outras.

3.2 Macrófagos classicamente ativados (M1)

De modo geral, macrófagos M1 são caracterizados por participarem da resistência contra parasitas intracelulares e no desenvolvimento de tumores. São conhecidos por sua atividade pró-inflamatória e ativados através da ação de substâncias como lipossacarídeos (LPS), IFN γ , TNF α , interleucina-1 (IL-1) (MANTOVANI et al., 2009; ITALIANI e BORASCHI, 2014; MARTINEZ e GORDON, 2014), agonistas de receptores do tipo Toll (TLR) (GALKINA e BUTCHER, 2012), especificamente agonistas dos TLR4 (EATON et al., 2015), bem como agonistas do transdutor de sinal e ativador de transcrição 1 (STAT1) (MOSMANN e COFFMAN, 1989). O acoplamento do agonista ao TLR desencadeia a cascata de ativação do NF- κ B, promovendo a secreção de mediadores inflamatórios característicos do fenótipo M1 (BONIZZI e KARIN, 2004). Além disso, macrófagos M1 exercem atividades citotóxicas que resultam na liberação de grande quantidade de óxido nítrico a partir da óxido nítrico sintase indutível (iNOS) e de ROS (LASKIN et al., 2011). Macrófagos M1 também podem ser identificados por possuírem uma elevada expressão de receptores com estruturas colagenosas (MARCO) e supressor de sinalização de citocinas 3 (SOCS3), além de secretarem citocinas como TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, bem como ciclooxigenase 2 (COX2) e idoleamina 2,3-dioxigenase 1 (IDO1) (PAULEAU et al., 2004). Desta forma, macrófagos M1 são considerados potentes células efetoras, estando intimamente relacionadas aos processos inflamatórios em um organismo.

3.3 Macrófagos alternativamente ativados (M2)

A via da cascata Th2 produz citocinas que promovem a diferenciação de macrófagos para o subtipo M2. Estes macrófagos estão envolvidos nas respostas anti-inflamatórias e atuam na manutenção da homeostase tecidual. As principais

substâncias que provocam essa diferenciação são IL-4 e IL-13 (SENA et al., 2013). Receptores de IL-4 presentes nos macrófagos, estimulados por seu agonista, ativam STAT6, que por sua vez ativa a transcrição de genes típicos do fenótipo M2 (OHMORI e HAMILTON, 1997). A resposta anti-inflamatória produzida por macrófagos M2 é seguida por remodelamento tecidual funcional e angiogênese local (LANDRY et al., 1997). Além disso, macrófagos M2 estão envolvidos na imunoregulação e nas reações alérgicas (LIU et al., 2014) através da produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-4, IL-13, IL-10, IL-12 e TGF- β (MANTOVANI et al., 2004; ITALIANI e BORASCHI, 2014; MARTINEZ e GORDON, 2014; MURRAY e WYNN, 2011). Em geral, estes macrófagos também são caracterizados por expressar receptor de manose tipo C1 (MRC1), supressor de sinalização de citocinas tipo 2 (SOCS2), fator de regulação de interferon tipo 4 (IRF4), ligante de quimiocina (CXC) tipo 13 (CXCL13), ligante de quimiocina (CC) tipo 12 (CCL12) e ligante de quimiocina tipo 24 (CCL24) (MURRAY e WYNN, 2011). Obeid e colaboradores (2013) descreveram que macrófagos M2 podem ainda subdividir-se em três classes distintas: M2a, M2b e M2c, as quais ocorrem quando o monócito ou macrófago é estimulado, respectivamente, por IL-4 e IL-13 (M2a), por complexos imunes e ligantes de TLR (M2b), e por IL-10 e glicocorticoides (M2c).

3.4 Disfunção endotelial

O endotélio representa uma camada única de células pavimentadas que recobre o interior dos vasos sanguíneos, localizando-se entre a corrente sanguínea e a parede dos vasos (BOYLE et al., 2009). As células que compõem o endotélio são chamadas de células endoteliais e são as responsáveis por proporcionar uma barreira anticoagulante, além de funcionar como uma barreira de permeabilidade seletiva (STEIN et al., 1992).

Anteriormente, acreditava-se que o endotélio era uma camada passiva na



atividade vascular. Porém, com o desenvolvimento das pesquisas vasculares, observou-se que o endotélio estava associado à atividade de relaxamento promovida pela acetilcolina. Atualmente, além da atividade do endotélio sobre a vasodilatação, aponta-se que o endotélio possui funções primordiais para o bom funcionamento vascular, uma vez que ele é capaz de detectar estímulos mecânicos e hormonais. Em resposta a estes estímulos, possui a capacidade de secretar substâncias que regulam a função vasomotora (vasoconstrição e vasodilatação), desencadeiam processos inflamatórios e afetam a homeostasia. As principais substâncias vasodilatadoras sintetizadas pelo endotélio são: o óxido nítrico (NO), as prostaciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (ENDEMANN e SCHIFFRIN, 2004).

Endotelina-1 (ET-1), angiotensina II (Ang II) e ROS representam os principais vasoconstritores produzidos pelo endotélio (VAN DER WAL et al., 1994; LÜSCHER et al., 2001;). Além destas substâncias, o endotélio também é capaz de produzir moduladores inflamatórios como o próprio NO, moléculas de adesão intercelular-1 (ICAM-1), moléculas de adesão vascular-1 (VCAM-1) e E-selectina (TORIMOTO et al., 2015). A liberação adequada dessas substâncias vasoativas e a expressão de moléculas de adesão na superfície das células endoteliais mantém o estado de homeostase.

Inicialmente, a disfunção endotelial foi descrita como uma vasodilatação deficiente, mesmo frente a estímulos específicos, como acetilcolina. Entretanto, hoje, compreende-se que o termo não se restringe apenas a redução da capacidade vasodilatadora, mas refere-se também ao estado pró-inflamatório e pró-trombótico desenvolvidos pela ativação das células endoteliais (ENDEMANN e SCHIFFRIN, 2004).

A disfunção endotelial tem sido associada à progressão de doenças como a hipertensão arterial (MURRAY e WYNN, 2011), a aterosclerose (LAHOZ e

MOSTAZA, 2007), entre outras doenças cardiovasculares (CAI e HARRISON, 2000).

3.5 Polarização de macrófagos e sua associação à disfunção endotelial

Muitos estudos têm sido realizados para investigar como os fenótipos dos macrófagos, sobretudo M1 e M2, podem influenciar no desenvolvimento e na manutenção da disfunção endotelial, bem como de outras patologias.

Metcalf e colaboradores (2015), utilizando meio de cultura acondicionado (MC) a partir de macrófagos M1 e M2 em co-cultura com células endoteliais de veia umbilical humana (HUVEC) demonstraram aumento na expressão de VCAM-1, ICAM-1 e aumento nos níveis de TNF α quando as células HUVEC foram co-cultivadas com MC provenientes de macrófagos M1. No mesmo trabalho, o MC oriundo de macrófagos associados ao glioblastoma promoveu respostas semelhantes aos M1 sobre as células endoteliais. Em conjunto, estas respostas promovem um estado pró-inflamatório sob as células endoteliais, ampliando o recrutamento de macrófagos por meio do aumento na regulação das moléculas de adesão, além de promover propriedades pró-trombóticas e o extravasamento vascular, induzindo a neovascularização do glioblastoma.

Na aterosclerose, várias pesquisas têm indicado que a diferença na concentração de macrófagos com diferentes fenótipos é extremamente importante na determinação da fragilidade da placa ateromatosa, pois o aumento da concentração do macrófago M1 produz um maior processo inflamatório, seguido por crescimento da placa, redução da estrutura fibrosa, maior chance de ruptura e de eventos tromboembólicos. Esta sucessão de eventos pode provocar a isquemia periférica de membros inferiores ou de órgãos alvos como o coração e o cérebro (FARB et al., 1996; GLASS e WITZTUM, 2001; VALLEGGI et al., 2010).

Estudos como o de Landry e colaboradores (1997), utilizando modelo de



lesão arterial em ratos, demonstram que a presença de TNF α , um dos principais produtos secretados por macrófagos M1 (MANTOVANI et al., 2009), ativa o NF- κ B, levando a uma série de alterações inflamatórias no tecido vascular como, por exemplo, o aumento na expressão de moléculas de adesão na superfície das células endoteliais e do músculo liso vascular, produzindo aumento do infiltrado de macrófagos e mantendo, assim, o estado inflamatório. Essas alterações resultam em ativação endotelial e no desenvolvimento de disfunção endotelial.

Guzik e colaboradores (2007), analisando a importância fisiopatológica do aumento de TNF α em modelo de hipertensão arterial por infusão de Ang II, trataram camundongos C57BL/6 com etanercept, um inibidor do TNF α , os resultados revelaram que o etanercept impediu o desenvolvimento de hipertensão induzida pela Ang II, além de reduzir a produção de superóxido (O $^{2-}$) vascular, inibindo o estresse oxidativo. Estes dados corroboram ainda mais a relação entre a presença de macrófagos M1 (produtor de TNF α) e a manutenção da hipertensão arterial e suas complicações.

Segundo Galkina e Butcher (2012), o condicionamento de HUVECs com TNF α , induz ao estado inflamatório nas células endoteliais, já que nesta condição ocorre aumento da expressão de marcadores inflamatórios como ICAM-1, E-selectina, MCP-1, IL-8 e IL-6, os quais podem estar associados ao desencadeamento de eventos cardiovasculares graves. Estes estudos mostram ainda que o uso de substâncias inibidoras de citocinas pró-inflamatórias como a grelina, reduz o estado inflamatório de maneira concomitante à redução de IL-8, MCP-1 e inibição da ativação do NF- κ B (SUMPIO et al., 2002; LEE et al., 2004).

A proteína reativa C (PCR) tem sido descrita como um marcador de risco independente na predição de doenças cardiovasculares. A mesma tem sido associada à disfunção endotelial (VITA e KEANEY, 2002; TEIXEIRA et al., 2014; EATON et al., 2015). Devaraj e

colaboradores (2011) avaliaram como a PCR influencia na polarização de M1 e M2 e a relação com a disfunção endotelial. Seus achados demonstraram que o tratamento com PCR resulta numa significativa polarização de macrófagos para M1, visto que o tratamento promove elevação de TNF α , IL-6, IL-1 β e MCP-1, condição esta que promove a manutenção do quadro de disfunção endotelial. Outro achado importante foi a descrição da conversão de macrófagos M2 para o fenótipo M1 frente à incubação com PCR, corroborando o conceito de que os estímulos presentes no meio irão determinar para qual fenótipo os macrófagos irão se polarizar. Adicionalmente, os autores demonstram a plasticidade deste processo, com modificação fenotípica mesmo em macrófagos já diferenciados para um determinado fenótipo. Isto é, observa-se a possibilidade de conversão entre um fenótipo e outro, dependendo do estímulo recebido por estas células no microambiente em que se encontram.

Assim como os estudos anteriores, Kawanishi e colaboradores (2010), em seus estudos com o tecido adiposo, demonstraram que macrófagos M1 estão envolvidos na manutenção do estado inflamatório crônico, enquanto macrófagos M2 inibem este estado.

Moore e colaboradores (2015) demonstraram que há acúmulo de macrófagos M2 na parede da aorta de camundongos hipertensos. Já havia sido determinado por outros pesquisadores a deposição de macrófagos na aorta e como isso colabora para a fibrose e enrijecimento das artérias (VERMA e ANDERSON, 2002; ISHIBASHI et al., 2004; MOORE et al., 2013). Neste trabalho, entretanto, o autor descreve como a polarização de macrófagos ocorre no desenvolvimento da hipertensão, demonstrando que entre 14-28 dias após a infusão de Ang II, os macrófagos que se acumularam nesse intervalo de tempo indicam ser M2, com base na sua expressão de MCR1, arginase-1 e na diminuição na expressão de iNOS. Porém, resultados anteriores realizados nos estágios iniciais da



hipertensão, entre os 7 dias iniciais após a infusão de Ang II, relataram que macrófagos M1, avaliados pela expressão de iNOS, estavam acumulados na aorta, o que promoveria a inflamação vascular através do recrutamento de células natural killers, aumentando a produção de $INF\gamma$ e produzindo disfunção endotelial pelo desacoplamento da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (KOSSMANN et al., 2013; KOSSMANN et al., 2014).

Entende-se, a partir destes resultados, que a mudança no estado de ativação dos macrófagos na parede dos vasos é dependente do tempo de desenvolvimento da hipertensão, assim sendo, no início da hipertensão a presença de M1 estaria associada à inflamação vascular e disfunção endotelial. Porém, com o progresso da doença, os macrófagos se polarizariam para o fenótipo M2, contribuindo no enrijecimento das artérias, uma vez que produzem $TGF-\beta$ e fator de crescimento derivado de plaquetas, os quais influenciam na diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, aumentando a produção de colágeno (WYNN, 2004; WYNN e RAMALINGAM, 2012).

Resultados obtidos por Khallou e colaboradores (2010) indicaram que em contato com o meio acondicionado de macrófagos M2, células do músculo liso vascular são estimuladas à proliferação. Estes dados levaram ao entendimento de que o acúmulo de macrófagos de fenótipo M2 na parede vascular contribui para o remodelamento vascular.

Em conjunto, os achados experimentais permitem afirmar que o conhecimento do fenótipo de macrófagos presentes no desenvolvimento de uma dada patologia ou ao longo de sua manutenção, bem como a compreensão dos fatores que produzem polarização de macrófagos para os diferentes fenótipos e os mecanismos ativados por tais substâncias, são de suma importância na compreensão dos eventos associados à disfunção vascular, bem como podem elucidar novas estratégias terapêuticas para esta condição, tornando-as

mais específicas e, preferencialmente, mais eficazes.

4. Conclusão

Muitos avanços foram feitos com os estudos de polarização de macrófagos e células endoteliais. Como vimos, ainda estamos em fase de descobertas. Entretanto, podemos inferir que os fenótipos M1 e M2 estimulam de diferentes formas as células endoteliais. Macrófagos M1, bem como as citocinas pró-inflamatórias por eles produzidas, promovem a manutenção do estado de disfunção endotelial. Em contrapartida, macrófagos M2 e as citocinas anti-inflamatórias secretadas por eles, estariam envolvidos com o desenvolvimento de remodelamento vascular. Todavia, a identificação dos fatores que promovem a polarização de macrófagos e o entendimento dos mecanismos da disfunção vascular associada à atividade dos macrófagos ainda necessita ser melhor investigado. A compreensão desta relação poderá elucidar novas estratégias terapêuticas para o combate a doenças vasculares.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de Mestrado concedida à Anne Caroline dos Santos Graça e ao diligente trabalho realizado pelos colaboradores deste trabalho.

Divulgação

Este artigo é inédito. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação do artigo por meio eletrônico.

Referências

ABRAMSON, S. L., GALLIN, J. I. IL-4 inhibits superoxide production by human mononuclear phagocytes. **The Journal of immunology**, v. 144, n. 2, p. 625-630, 1990.



- BOYLE, J. J. et al. Coronary intraplaque hemorrhage evokes a novel atheroprotective macrophage phenotype. **The American journal of pathology**, v. 174, n. 3, p. 1097-1108, 2009. doi.org/10.2353/ajpath.2009.080431
- BONIZZU, G., KARIN, M. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. **Trends in immunology**, v. 25, n. 6, p. 280-288, 2004. doi.org/10.1016/j.it.2004.03.008
- CAI, H., HARRISON, D. G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circulation research**, v. 87, n. 10, p. 840-844, 2000. doi.org/10.1161/01.RES.87.10.840
- CARVALHO, M. H. C. et al. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Ver Bras Hipertens**, v. 8, n. 1, p. 76-88, 2001.
- COSENTINO, F., LÜSCHER, T. F. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 32, p. S54-61, 1998.
- DAVID, J. R. Lymphocyte mediators and cellular hypersensitivity. **New England Journal of Medicine**, v. 288, n. 3, p. 143-149, 1973. doi.org/10.1056/NEJM197301182880311
- DAVIGNON, J., GANZ, P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. **Circulation**, v. 109, n. 23 suppl 1, p. III-27-III-32, 2004. doi.org/10.1161/01.CIR.0000131515.03336.f8
- DE PAOLI, F., STAELS, B., CHINETTI-GBAGUIDI, G. Macrophage phenotypes and their modulation in atherosclerosis. **Circulation Journal**, v. 78, n. 8, p. 1775-1781, 2014. doi.org/10.1253/circj.CJ-14-0621
- DEANFIELD, J. E., HALCOX, J. P., RABELINK, T. J. Endothelial function and dysfunction. **Circulation**, v. 115, n. 10, p. 1285-1295, 2007. doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.652859
- DEVARAJ, S., JIALAL, I. C-reactive protein polarizes human macrophages to an M1 phenotype and inhibits transformation to the M2 phenotype. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 31, n. 6, p. 1397-1402, 2011. doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.225508
- DOMSCHKE, G., GLEISSNER, C. A. CXCL4-induced macrophages in human atherosclerosis. **Cytokine**, v. 17, n. 4, p. 1197-1212, 2017. doi.org/10.1016/j.cyto.2017.08.021
- EATON, K. V. et al. Engineering macrophages to control the inflammatory response and angiogenesis. **Experimental cell research**, v. 339, n. 2, p. 300-309, 2015. doi.org/10.1016/j.yexcr.2015.11.021
- ENDEMANN, D. H., SCHIFFRIN, E. L. Endothelial dysfunction. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, n. 8, p. 1983-1992, 2004. doi.org/10.1097/01.ASN.0000132474.50966.DA
- FARB, A. et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. **Circulation**, v. 93, n. 7, p. 1354-1363, 1996. doi.org/10.1161/01.CIR.93.7.1354
- FURCHGOTT, R. F. et al. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, n. 5789, p. 373-376, 1980.
- GALKINA, E. V., BUTCHER, M. J. Phenotypic and functional heterogeneity of macrophages and dendritic cell subsets in the healthy and atherosclerosis-prone aorta. **Frontiers in physiology**, v. 3, n.12, p. 234-253, 2012. doi.org/10.3389/fphys.2012.00044
- GLASS, C. K., WITZTUM, J. L. Atherosclerosis: the road ahead. **Cell**, v. 104, n. 4, p. 503-516, 2001. doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00238-0
- GLEISSNER, C. A. et al. CXC chemokine ligand 4 induces a unique transcriptome in monocyte-derived macrophages. **The**



Journal of Immunology, v. 184, n. 9, p. 4810-4818, 2010. doi.org/10.4049/jimmunol.0901368

GUZIK, T. J. et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. **Journal of Experimental Medicine**, v. 204, n. 10, p. 2449-2460, 2007. doi.org/10.1084/jem.20070657

IGNARRO, L. J. et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, n. 24, p. 9265-9269, 1987.

ISHIBASHI, M. et al. Critical role of monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 on monocytes in hypertension-induced vascular inflammation and remodeling. **Circ Res** v. 94, n. 12, p. 1203-1210, 2004. doi.org/10.1161/01.RES.0000126924.23467.A3

ITALIANI, P., BORASCHI, D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. **Frontiers in immunology**, v. 5, n.10, p. 1678-1686, 2014. doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514

KADL, A. et al. Identification of a novel macrophage phenotype that develops in response to atherogenic phospholipids via Nrf2 novelty and significance. **Circulation research**, v. 107, n. 6, p. 737-746, 2010. doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.215715

KARUNAKARAN, D. et al. Therapeutically inhibiting macrophage necroptosis reduces inflammation-driven atherosclerosis and promotes plaque stability. **The FASEB Journal**, v. 31, n. 1 Supplement, p. 327.2-327.2, 2017. doi.org/10.1096/fj.1530-6860

KASHYAP, S. et al. Blockade of CCR2 reduces macrophage influx and development of chronic renal damage in murine renovascular hypertension. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 310, n. 5, p. F372-F384, 2016. doi 10.1152/ajprenal.00131.2015

KAWANISHI, N. et al. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. **Exercise immunology review**, v. 16, p. 105-118, 2010.

KHALLOU-LASCHET, J. et al. Macrophage plasticity in experimental atherosclerosis. **PloS one**, v. 5, n. 1, p. 8852, 2010. doi.org/10.1371/journal.pone.0008852

KOSSMANN, S. et al. Inflammatory monocytes determine endothelial nitric-oxide synthase uncoupling and nitro-oxidative stress induced by angiotensin II. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 40, p. 27540-27550, 2014. doi 10.1074/jbc.M114.604231

KOSSMANN, S. et al. Angiotensin II-Induced vascular dysfunction depends on interferon- γ -driven immune cell recruitment and mutual activation of monocytes and NK-Cells significance. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 33, n. 6, p. 1313-1319, 2013. doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.301437

LAHOZ, C., MOSTAZA, J. M. Atherosclerosis as a systemic disease. **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 60, n. 2, p. 184-195, 2007. doi.org/10.1016/S1885-5857(07)60131-5

LANDRY, D. B. et al. Activation of the NF-kappa B and I kappa B system in smooth muscle cells after rat arterial injury. Induction of vascular cell adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1. **The American journal of pathology**, v. 151, n. 4, p. 1085, 1997.

LASKIN, D. L. et al. Macrophages and tissue injury: agents of defense or destruction?. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 51, p. 267-288, 2011. doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105812



- LAUTERBACH, M. A. R., WUNDERLICH, F. T. Macrophage function in obesity-induced inflammation and insulin resistance. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 469, n. 3-4, p. 385-396, 2017. doi.org/10.1007/s00424-017-1955-5
- LEE, E.Y. et al. Angiotensin II receptor blocker attenuates overexpression of vascular endothelial growth factor in diabetic podocytes. **Experimental & molecular medicine**, v. 36, n. 1, p. 65, 2004.
- LIU, Y. C. et al. Macrophage polarization in inflammatory diseases. **International journal of biological sciences**, v. 10, n. 5, p. 520, 2014. doi/10.7150/ijbs.8879
- LÜSCHER, T. F. et al. Vascular effects of newer cardiovascular drugs: focus on nebivolol and ACE-Inhibitors. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 38, p. S3-S12, 2001.
- LUZ, P. L., LAURINDO, F. R. M., CHAGAS, A. C. P. Endotélio e doenças cardiovasculares. **Endotélio e doenças cardiovasculares**. v. 22, p. 125-138, 2003.
- LUZ, P. L., MATOS, J. S., CHAGAS, A. C. P. Endotélio e aterosclerose. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v. 23, n. 4, p. 10-17, 2013.
- MANTOVANI, A., GARLANDA, C., LOCATI, M. Macrophage diversity and polarization in atherosclerosis. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 29, n. 10, p. 1419-1423, 2009. doi.org/10.1161/ATV.BAHA.108.180497
- MANTOVANI, A. et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **Trends in immunology**, v. 25, n. 12, p. 677-686, 2004. doi.org/10.1016/j.it.2004.09.015
- MARTINEZ, F. O.; GORDON, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. **F1000prime reports**, v. 6, 2014. doi.org/10.12703/ P6-13
- METCALF, J., ALDAPE, KENNETH; ZADEH, GELAREH. angi-10glioma-associated macrophages promote endothelial cell dysfunction. **neuro-oncology**, v. 17, n. Suppl 5, p. v43, 2015. doi.org/10.1093/neuonc/nov207.10
- METCHNIKOFF, E. Immunity in infective diseases. University Press, 1905.
- MOORE, J. P. et al. M2 macrophage accumulation in the aortic wall during angiotensin II infusion in mice is associated with fibrosis, elastin loss, and elevated blood pressure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 5, p. H906-H917, 2015. doi.org/10.1152/ajpheart.00821.2014
- MOORE, J. P. et al. A flow cytometric method for the analysis of macrophages in the vascular wall. **Journal of immunological methods**, v. 396, n. 1, p. 33-43, 2013. doi.org/10.1016/j.jim.2013.07.009
- MOREIRA, A. P., HOGABOAM, C. M. Macrophages in allergic asthma: fine-tuning their pro-and anti-inflammatory actions for disease resolution. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 31, n. 6, p. 485-491, 2011. doi.org/10.1089/jir.2011.0027
- MOSMANN, T. Rv; COFFMAN, R. L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. **Annual review of immunology**, v. 7, n. 1, p. 145-173, 1989. doi.org/10.1146/annurev.iy.07.040189.001045
- MOSSER, D. M., EDWARDS, J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nature reviews immunology**, v. 8, n. 12, p. 958-969, 2008. doi.org/10.1038/nri2448
- MURRAY, P. J.; WYNN, T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. **Nature reviews immunology**, v. 11, n. 11, p. 723-737, 2011. doi.org/10.1038/nri3073
- NATHAN, C. F. et al. Identification of interferon-gamma as the lymphokine that



activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. **Journal of Experimental Medicine**, v. 158, n. 3, p. 670-689, 1983. doi.org/10.1084/jem.158.3.670

NORTH, R. J. Cellular mediators of anti-Listeria immunity as an enlarged population of short-lived, replicating T cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 138, n. 2, p. 342-355, 1973. doi.org/10.1084/jem.138.2.342

OBEID, E. et al. The role of tumor-associated macrophages in breast cancer progression. **International journal of oncology**, v. 43, n. 1, p. 5-12, 2013.

OHMORI, Y., HAMILTON, T. A. IL-4-induced STAT6 suppresses IFN-gamma-stimulated STAT1-dependent transcription in mouse macrophages. **The Journal of immunology**, v. 159, n. 11, p. 5474-5482, 1997.

PAULEAU, A. L. et al. Enhancer-mediated control of macrophage-specific arginase I expression. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 12, p. 7565-7573, 2004. doi.org/10.4049/jimmunol.172.12.7565

PERTICONE, F. et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. **Circulation**, v. 104, n. 2, p. 191-196, 2001. doi.org/10.1161/01.CIR.104.2.191

SENA, C. M., PEREIRA, A. M., SEIÇA, R. Endothelial dysfunction – a major mediator of diabetic vascular disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1832, n. 12, p. 2216-2231, 2013. doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.08.006

STEIN, M. et al. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 176, n. 1, p. 287-292, 1992. doi.org/10.1084/jem.176.1.287

SUMPIO, B. E., RILEY, J. T., DARDIK, A. Cells in focus: endothelial cell. **The**

international journal of biochemistry & cell biology, v. 34, n. 12, p. 1508-1512, 2002. doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00075-4

TEIXEIRA, B. C. et al. Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares. **Jornal vascular brasileiro**, v. 13, n. 2, 2014. doi.org/10.1590/jvb.2014.054

TORIMOTO, K. et al. Effects of exenatide on postprandial vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. **Cardiovascular diabetology**, v. 14, n. 1, p. 25, 2015. doi.org/10.1186/s12933-015-0188-1

VALLEGGI, S. et al. C-reactive protein adversely alters the protein-protein interaction of the endothelial isoform of nitric oxide synthase. **Clinical chemistry**, v. 56, n. 8, p. 1345-1348, 2010. doi.org/10.1373/clinchem.2009.142364

VAN DER WAL, A. C. et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. **Circulation**, v. 89, n. 1, p. 36-44, 1994. doi.org/10.1161/01.CIR.89.1.36

VERMA, S., ANDERSON, T. J. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. **Circulation**, v. 105, n. 5, p. 546-549, 2002. doi.org/10.1161/hc0502.104540

VINH, A. et al. Inhibition and genetic ablation of the B7/CD28 T-cell costimulation axis prevents experimental hypertension. **Circulation**, p. CIRCULATIONAHA.109.930446, 2010. doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.930446

VITA, J. A., KEANEY, J. F. Endothelial function. **Circulation**, v. 108, n. 17, p. 2093-2098, 2002. doi.org/10.1161/01.CIR.0000028581.07992.56



Ciências Ambientais

WANG, X. et al. Macrophage Cyclooxygenase-2 Protects Against Development of Diabetic Nephropathy. **Diabetes**, v. 66, n. 2, p. 494-504, 2017. doi.org/10.2337/db16-0773

WENZEL, P. et al. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. **Circulation**, p. CIRCULATIONAHA.111.034470, 2011. doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.034470

WYNN, T. A. Fibrotic disease and the TH1/TH2 paradigm. **Nature Reviews**

Immunology, v. 4, n. 8, p. 583-594, 2004. doi.org/10.1038/nri1412

WYNN, T. A., RAMALINGAM, T. R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. **Nature medicine**, v. 18, n. 7, p. 1028-1040, 2012. doi.org/10.1038/nm.2807

ZHAO, M. et al. IL-37 prejudica a resistência do hospedeiro à infecção por *Listeria* por supressão da função dos macrófagos. **Comunicações de pesquisa bioquímica e biofísica**, v. 485, n. 2, p. 563-568, 2017. doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.11.002