**PPARγ regula a transcrição de esfingosina quinase 1 e promove enriquecimento da HDL com esfingosina-1-fosfato reduzindo a extensão do Infarto do Miocárdio**

José Carlos de Lima-Júnior1,2, Helison Rafael Pereira do Carmo1,2, Fernanda Aparecida Heleno Batista3, Mariana Bortoletto Grizante3, Hozana A. Castillo3, Ângela Saito3, Carlos A Sorgi4,Ana Carolina Migliorini Figueira3, Luiz Sérgio Carvalho1, Leonardo dos Reis Silveira2,Lício Augusto Velloso1,2, Andrei C. Sposito1,2

1. Departamento de Medicina Interna, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil

2. Centro de Pesquisa em Obesidade e Comordidades, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil

3. Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), Centro Brasileiro para Energia e Materiais (CNPEM), Campinas, São Paulo 13083-970, Brasil

4. Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

**Introdução** Esfingosina-1-fosfato (S1P) é um esfingolipídio bioativo envolvido em vários processos celulares, carreado no plasma ligado à lipoproteína de alta densidade (HDL; ~80%) ou à albumina. A S1P é sintetizada pela esfingosina quinase 1 (SPHK1) e secretada no meio extracelular onde ligada a HDL ativa receptores presentes em cardiomiócitos, células endoteliais e monócitos. Por esta via, S1P pode reduzir a extensão do infarto do miocárdio (IAM), à medida que limita a lesão de isquemia e reperfusão. Até o presente, mecanismos moleculares responsáveis por aumentar a síntese de S1P são desconhecidos. Nosso objetivo foi identificar novos elementos promotores envolvidos na regulação transcricional da *SPHK1*, que culmine na produção de S1P, verificar se a ativação desses possíveis alvos resulta em enriquecimento da HDL com S1P e por fim se a HDL enriquecida em S1P por este mecanismo é eficaz em reduzir a extensão do IAM. **Métodos** Usando uma abordagem *in silico* e uma abordagem de interação proteína/DNA, identificamos três *enhancers* intrônicos da *SPHK1*. O fenótipo da HDL isolada de humanos saudáveis foi testada em um modelo *ex-vivo* de isquemia-reperfusão em coração isolado (Langendorff). Usamos uma abordagem de esfingolipidômica para investigar o impacto da modulação da *SPHK1* no reostato de esfingolipídios em células endoteliais. **Resultados** Identificamos três sítios de ligação ao heterodímero PPARγ−RXRα (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma γα: receptor retinóide X) na região intrônica de *SPHK1* usando uma abordagem *in silico.* Tais sítios de ligação a esses fatores de transcrição estavam conservados entre 20 espécies ao compararmos ortólogos alinhados da *SPHK1* de 20 diferentes espécies. A fim de corroborar a ligação do PPARγ−RXRα a estas três sequências de DNA, as isotermas de ligação obtidas por anisotropia de fluorescência confirmaram que o PPARγ−RXRα interage com a sequência FITC-DR1 com alta afinidade (controle contendo o elemento responsivo canônico ao PPARγ−RXRα), assim como com as três sequências de DNA sintéticas marcadas com um fluoróforo, nomeadas Sk-8136, Sk-4520, Sk-959. Nós também confirmamos que estas três regiões se comportaram como *enhancers* da *SPHK1* usando um vetor repórter. Construtos contendo as sequências identificadas como regulatórias foram amplificados por PCR e clonados no vetor repórter promotor pGL3p e todas induziram a transcrição do gene da luciferase em relação ao vetor vazio contendo apenas o promotor SV40. Por conseguinte, também demonstramos que agonistas PPARγ induzem expressão de SPHK1 em células endoteliais, bem como sua atividade enzimática. Ademais, a ativação da *SPHK1* via PPARγ influenciou a capacidade de migração de células endoteliais, bem como o bloqueio do PPARG usando o antagonista GW9662 alterou o rearranjo celular *in vivo* usando o tronco embriônico da linhagem de zebrafish Tg(fli:EGFP)y1, repórter para angiogênese. Em voluntários saudáveis, observamos que o agonista PPARγ pioglitazona induz aumento no conteúdo de S1P na HDL. Finalmente, a HDL enriquecida com S1P recuperada destes voluntários após tratamento com pioglitazona reduziu a extensão do IAM quando comparado com HDL dos mesmos voluntários obtidos antes do tratamento. **Conclusão** O complexo PPARγ−RXRα é fator transcricional da *SPHK1* e a administração de agonistas PPARγ reduzem a extensão do IAM por meio do enriquecimento da HDL com S1P.