

**LUANA RIBEIRO RICARDI**

**INTERAÇÃO CÉLULA-CRISOTILA EM DUAS DIFERENTES LINHAGENS  
CELULARES: UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA E MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Profa. Dr. Gláucia Maria Machado-Santelli

Versão original

São Paulo  
2013

## RESUMO

RICARDI, L. R. **Interação célula-crisotila em duas diferentes linhagens celulares: uma abordagem morfológica e molecular.** 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Asbestos é um termo geral usado comercialmente para descrever minerais fibrosos de silicato que ocorrem na superfície terrestre. A fibra mais abundante e mais utilizada até hoje é denominada crisotila. Em maior ou menor grau, todas as formas de asbestos são potencialmente carcinogênicas, mas o uso da crisotila no mercado mundial é considerado seguro. Embora, fragmentos menores podem permanecer por mais tempo em tecidos pulmonares. As fibras de crisotila, assim como as demais fibras de asbestos, possuem sílica na sua composição e, por isso, podem ser fagocitadas com a participação de receptores *scavenger*, já que estes possuem uma interação com partículas contendo sílica. Este trabalho teve como objetivo o estudo de mecanismos de interação e de internalização das pequenas fibras de crisotila com uma linhagem celular monocítica e outra derivada de células de carcinoma de pulmão. Uma análise por microscopia confocal de varredura a laser e microscopia eletrônica de transmissão foi realizada e observou-se que ambas as linhagens são capazes de internalizar fibras de crisotila em um período que varia de 1 a 36 horas. A presença de elementos do citoesqueleto próximos às fibras de crisotila foi verificada. Observamos também alterações no nível de expressão de alguns elementos do citoesqueleto em células expostas a fibras de crisotila. Em ambas as linhagens celulares haviam fibras envoltas ou não pela membrana plasmática e frequentemente estavam associadas a elementos do citoesqueleto, sugerindo que a internalização das fibras pode ocorrer por meio da endocitose e/ou da perfuração física da membrana plasmática. Dentro deste contexto, a participação de receptores no processo de internalização de fibras de crisotila também foi estudada e verificamos que a exposição à crisotila gerou efeitos sobre os níveis de expressão do mRNA e de proteínas de alguns dos receptores *scavenger* estudados, sugerindo que esses receptores podem estar envolvidos de alguma forma com o processo de internalização de fibras de crisotila

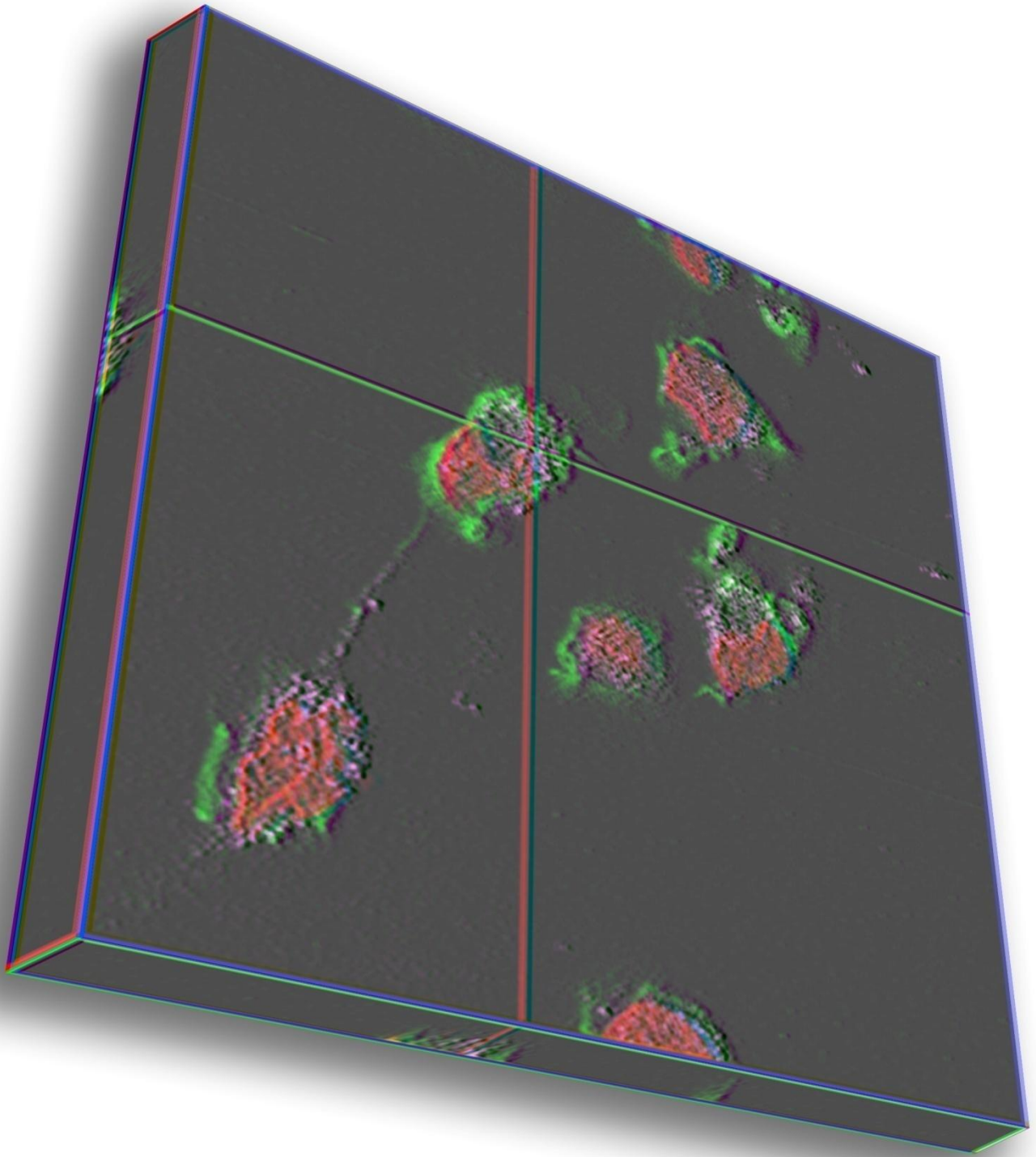
Palavras-chave: Crisotila. Internalização. Membrana plasmática. Elementos do citoesqueleto. Receptores *scavenger*.

## ABSTRACT

RICARDI, L. R. **Cell-Chrysotile interaction in two different cell lines: a morphological and molecular approach.** 2013. 92 p. Dissertation (Master thesis Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Asbestos is a general term used commercially to describe silicate minerals occurring in the Earth's surface. Chrysotile is the most used fiber until today and it is considered safe. In lesser or greater levels, all asbestos fibers are potentially carcinogenic, but chrysotile used in world market is considered. However, smaller fragments can be found in lung tissues for a long period of time. Chrysotile fibers, as other asbestos fibers, are composed by silica and may be phagocytosed with the participation of *scavenger* receptors, since these present a silica particle interaction. This study's goal was to study the interaction and internalization mechanisms of small chrysotile fibers in a monocytic cell lineage and in a carcinoma derived cell lineage. Confocal laser scan microscopy analysis and electronic microscopy transmission analysis were conducted in both lineages, that showed capable of internalize chrysotile fiber in a period of time that ranges from 1 to 36 hours. Cytoeskeleton elements presence near the fibers was verified on both microscopy analyses. We also found changes in expression levels of some of cytoskeleton elements in cells exposed by chrysotile fibers. In both cell lineages there were fibers involved or not by cell membrane and frequently associated to cytoskeleton elements. These facts suggest that the internalization of fibers may occur through endocytosis and/or by physical perforation of the plasma membrane. In this context, the participation of *scavenger* receptors in the internalization process of chrysotile fibers was also studied, and we verified that exposure to chrysotile affected the expression levels of mRNA and proteins of some *scavenger* receptors, suggesting that these receptors may be associated to the internalization process of chrysotile fibers.

Keywords: Chrysotile. Internalization. Plasma membrane. Cytoeskeleton elements. *Scavenger* receptor.



# ***1\_INTRODUÇÃO***

Asbestos é um termo geral usado comercialmente para descrever minerais de silicato que ocorrem na superfície terrestre. A estrutura desses minerais pode ser encontrada tanto na forma fibrosa como não fibrosa. O nome usado comumente como asbestos é utilizado para descrever minerais de silicato fibrosos que são encontrados na forma de feixes filamentosos, compostos por fibras flexíveis, normalmente de pequeno diâmetro e comprimento longo. Já as formas não fibrosas, são encontradas na natureza como cristais (HSE, 2005; USGS, 2001<sup>1</sup> apud INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2012).

Asbestos são encontrados na crosta terrestre, normalmente em lugares onde a rocha original sofreu metamorfismo ou em terrenos com uma composição ultrabásica, porém é comum a contaminação com outros minerais ou outros tipos de fibras também (IARC, 2012). As fibras de asbestos podem ser reunidas em dois grupos, os anfibólios e as serpentinas. O primeiro grupo inclui cinco tipos: antofilita, tremolita, actinolita, amosita (asbesto marrom) e crocidolita (asbesto azul). O segundo grupo inclui a fibra mais abundante e mais utilizada até hoje, denominada crisotila ou asbesto branco (GIANTOMASSI et al., 2010; VIRTA, 2005).

Dentre os tipos de asbestos citados, somente três tiveram relevância comercial na maioria dos países industrializados até a década de 80, são eles: amosita, crocidolita e crisotila. Durante o período de 1925 a 1975 cerca de 90% a 95% da produção industrial de asbestos era de crisotila, de 2 a 3% de amosita e 3% crocidolita (CRAIGHEAD; GIBBS, 2008). O que deixa evidente a preponderância do uso da crisotila frente aos outros asbestos.

## 1.1 Histórico do uso dos asbestos

Os asbestos têm sido utilizados desde a antiguidade por possuírem características físicas e químicas atraentes, tais como: resistência à tração, a ácidos e a altas temperaturas (MURRAY, 1990). Estudos arqueológicos indicam que os habitantes do oeste da Finlândia utilizavam potes de barro e utensílios de cozinha reforçados com um mineral, identificado posteriormente como antofilita, há pelo

---

<sup>1</sup> USGS. Some Facts about Asbestos. **USGS Fact Sheet FS-012-01**, 2001. HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE. **HSG 248 'Asbestos: The analysts' guide for sampling, analysis and clearance procedures'**. London: HSE Books, 2005.

menos 4500 anos, sugerindo que o uso dos asbestos na civilização humana é bastante antigo (EUROPAEUS- ÄYRÄPÄÄ, 1930<sup>2</sup> apud ROSS; NOLAN, 2003).

Também há descrições do uso dos asbestos na Grécia e na Roma antiga, há mais de 2000 anos, em candeeiros, toalhas de mesa, mortalhas e até nas construções de casas (ROSS; NOLAN, 2003). Em meados do século XIII, Marco Polo em uma de suas viagens pela Ásia descreveu que os habitantes utilizavam roupas indestrutíveis, resistentes ao fogo (MURRAY, 1990).

A indústria moderna de asbestos começou em 1800 com o aparecimento da indústria têxtil italiana (ALLEMAN; MOSSMAN, 1997; BOWLES, 1946; SINCLAIR, 1959<sup>3</sup> apud VIRTÁ, 2005;). Entre 1860 e 1870, a exploração dos asbestos ganhou força, possivelmente devido a necessidade de novas tecnologias aliada ao estabelecimento de um consórcio entre empresários italianos e ingleses e a exploração de depósitos de asbestos (hoje descritos como crisotila) no norte da Itália, Rússia e Quebec (ROSS; NOLAN, 2003).

Nesta época, o aumento do consumo de produtos contendo asbestos impulsionava a diversificação da produção e o surgimento de novas empresas. Em 1878, em uma exposição realizada em Paris, alguns desses novos produtos foram apresentados ao público com o intuito de obter maior atenção internacional para estes (ROSS; NOLAN, 2003). O aumento da industrialização e as vantagens que os asbestos apresentavam, tais como: flexibilidade, resistência ao calor e à tração, trouxeram novas aplicações que podem ser sumarizadas em um artigo intitulado "Asbestos and its applications", publicado em 1883 (MURRAY, 1990).

## 1.2 Produção e consumo dos asbestos

O advento de novas tecnologias resultou em um aumento significativo no uso de produtos associados aos asbestos, como é o caso da máquina Hatschek que une a fabricação de cimento aos asbestos e possibilitou a produção de materiais de construção mais baratos e resistentes ao fogo, desempenhando um papel

<sup>2</sup> EUROPAEUS-ÄYRÄPÄÄ, A. **Die relative chronologie der steinzeitlichen Kermik**, Finland: Acta Archaeologie, v. 1, p. 169–190, 1930.

<sup>3</sup> ALLEMAN, J. E., MOSSMAN, B.T., 1997, **Asbestos revisited: Scientific American**, v. 277, n. 1, p. 70-75, 1997.

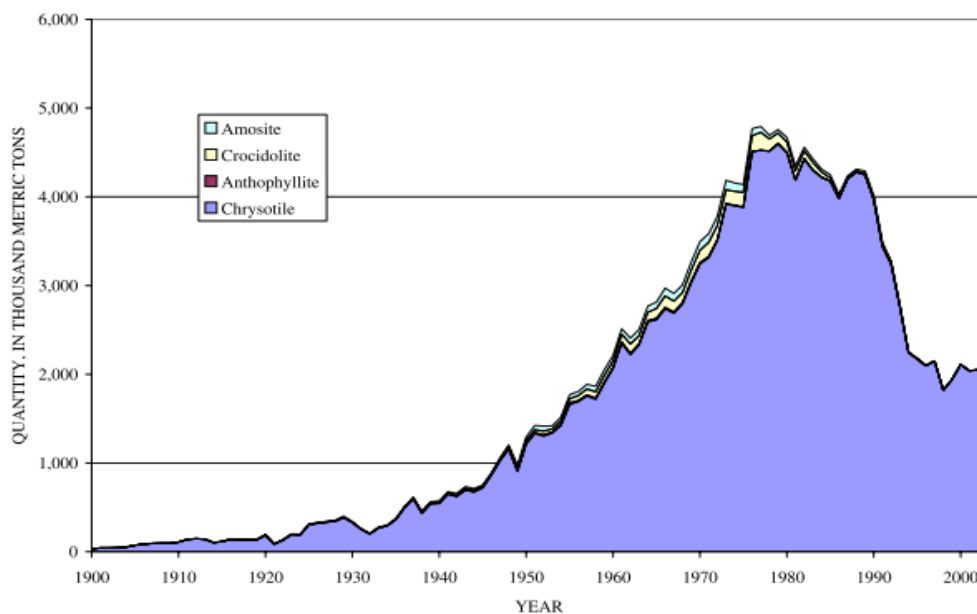
BOWLES, O. **Asbestos—The silk of the mineral kingdom**. New York: Ruberoid Co., 1946.

Sinclair, W. E. **Asbestos—its origin, production, and utilization**. London: Mining Publications, 1959.

importante na construção civil (ROSATO, 1959; SINCLAIR, 1959<sup>4</sup>, apud VIRTA, 2005). Os novos usos dos asbestos em diferentes indústrias, como automobilística (pastilhas, lonas de freio e embreagens), construção civil e no abastecimento de água, aumentaram a produção mundial em 1910 para 80.000 toneladas de amianto, um aumento de 300 a 400% do que era encontrado em 1900 (VIRTA, 2005).

Apesar da diminuição tanto da produção como do consumo de asbestos durante períodos de guerras e de crises econômicas, após a passagem destes eventos ocorria novamente um aumento da demanda do uso dos asbestos, impulsionados pelos novos mercados em expansão, como a indústria têxtil, construção civil, asfalto, reforço em vigas de aço, etc (figuras 1 e 2) (VIRTA, 2005).

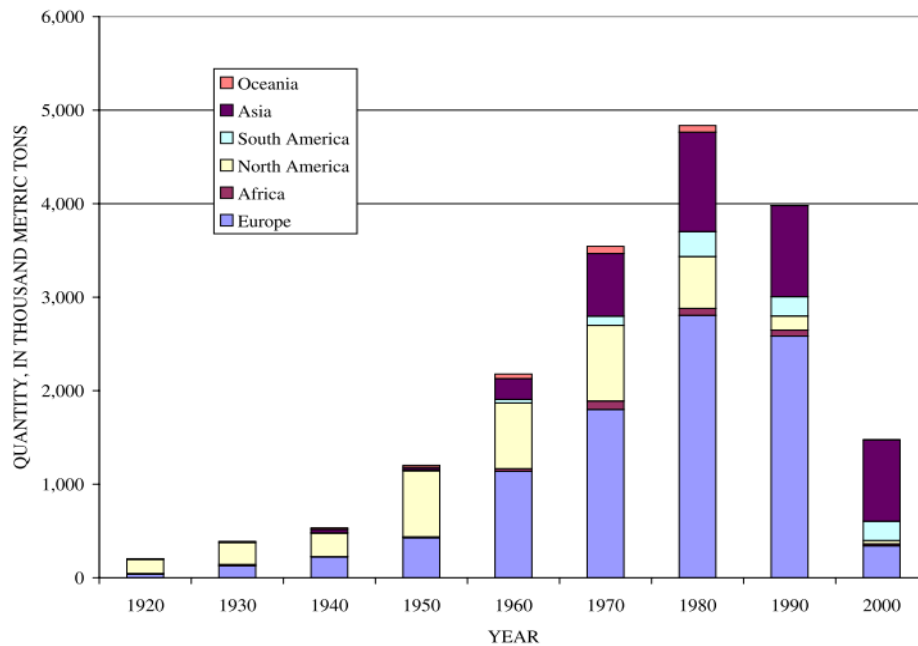
Figura 1- Produção mundial de asbestos, dos diferentes tipos, no período que compreende 1900 a 2003.



Fonte: Virta, 2005

<sup>4</sup> ROSATO, D. V. **Asbestos-Its industrial applications**. New York: Reinhold Publishing Corp., 1959. SINCLAIR, W. E. **Asbestos—Its origin, production, and utilization**. London: Mining Publications, 1959.

Figura 2- Consumo mundial de asbestos de acordo com no período que compreende 1920 a 2000.



Fonte: Virta, 2005

Ao longo dos anos, mais de 3000 produtos industrializados continham asbestos (CRAIGHEAD; GIBBS, 2008) e o pico do uso destas fibras minerais foi em meados de 1970, com produção de cerca de 5.000.000 toneladas de asbestos por 25 países (PARK et al., 2012; VIRTA, 2005). A partir desta época, houve um declínio do uso e da produção destas fibras devido a preocupações relacionadas à saúde humana e muitos países impuseram medidas rigorosas ou até o banimento total dos asbestos (NISHIKAWA et al., 2008).

A crisotila é o tipo predominante produzido e consumido no mundo e, embora o consumo de asbestos tenha diminuído na América do Norte e na Europa ocidental, a venda em países do Sudeste da Ásia, América do Sul e leste da Europa aumentaram até meados da década de 90 (STAYNER et al., 1996). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de crisotila e, embora grande parte da sua produção seja destinada a exportação, o uso no país é justificado por ser controlado e seguro, porém para trabalhadores brasileiros o limite aceito é de 2,0 fibras/cm<sup>3</sup> (Norma Regulamentadora NR-15, anexo 12), sendo que o aceito mundialmente é de 0,4 fibras/cm<sup>3</sup> (LADOU, 2004).



### 1.3 Riscos a saúde pelo uso de asbestos

Os efeitos adversos oriundos dos asbestos começaram a aparecer na forma de relatos de trabalhadores para inspetores de fábricas na França e no Reino Unido. No ano de 1906, em Londres, um médico relatou a observação de uma fibrose incomum nos pulmões de um trabalhador de uma fábrica de asbestos para um comitê responsável por doenças oriundas do trabalho, mas não obteve nenhuma resposta deste comitê (AURIBAUT, 1906<sup>5</sup> apud MURRAY, 1990). O interessante é que este trabalhador foi o único de dez companheiros da mesma fábrica a viver mais de trinta anos de idade, já que seus companheiros morreram por volta desta idade, provavelmente de doenças decorrentes da exposição aos asbestos (MURRAY, 1990).

Em 1927, o termo asbestose foi usado pela primeira vez ao associar doenças a “curiosos corpos” que apareciam nos pulmões de trabalhadores expostos aos asbestos. Casos similares continuaram a ser descritos e, durante a década de 1930, alguns trabalhos descreveram doenças decorrentes ao uso dos asbestos (MURRAY, 1990). Estas doenças compreendem as asbestoses (fibrose nos pulmões), câncer de pulmão, mesoteliomas e placas pleurais (PARK et al., 2012).

A exposição das pessoas que trabalhavam diretamente com os asbestos e a presença de asbestos no ar (formação de poeira) devido a manipulação das fibras, começaram a ser motivo de preocupação. Em uma tentativa de minimizar os riscos, em 1938 foram estabelecidos limites de concentração de poeira no ar, principalmente em indústrias têxteis, nas quais durante o processo de fabricação uma grande quantidade de poeira era formada (CRAIGHEAD; GIBBS, 2008).

A contaminação com os asbestos pode ocorrer por meio da inalação das fibras, a principal forma de exposição para a população, e em menor grau por meio de água ou solo contaminado. As famílias das pessoas que trabalham diretamente com os asbestos também podem estar expostas às fibras indiretamente, através da inalação de fibras impregnadas em roupas e cabelos (IARC, 2012).

Em 1992, os asbestos foram classificados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) como importantes substâncias a serem estudadas e pesquisadas em relação aos efeitos que causam sobre a saúde humana.

---

<sup>5</sup> AURIBAUT, M. *Bulletin d'Inspection du Travail*, v. 14, p. 120-132, 1906

De acordo com a classificação da Agencia Internacional para Pesquisa com Câncer (IARC) asbestos são considerados carcinogênicos para humanos (BERNSTEIN, et al., 2005).

A inalação de fibras de asbestos e a sua deposição nos alvéolos é um aspecto importante para patogenicidade e está associada com o desenvolvimento de doenças malignas e não malignas (BERNSTEIN et al., 2005; IARC, 2012). Esta patogenicidade é complexa e depende de outros fatores, como: a aerodinâmica, geometria, diâmetro, interação entre as cargas elétricas, solubilidade e o tamanho das fibras quando inaladas (BERNSTEIN et al., 2005).

O tamanho das fibras parece estar relacionado com a facilidade de limpeza e de fagocitose pelos macrófagos, uma vez que as fibras longas podem penetrar profundamente no tecido, dificultar a remoção pelos macrófagos, interagir localmente ou sofrer translocação para outras regiões. As fibras menores tendem a ser mais facilmente fagocitadas pelos macrófagos durante o processo de limpeza (BERNSTEIN et al., 2005). A tentativa frustrada de digestão de fibras de asbestos pelos macrófagos pode ocasionar a morte destas células, a liberação de citocinas e de fatores pró-inflamatórios que juntos podem vir a promover a secreção de colágenos e conseqüentemente a fibrose (STROHMEIER, et al., 2010).

O potencial patogênico dos asbestos depende não só da variedade química entre os diferentes tipos, mas também da organização do mineral (hábito mineral) e do tamanho das fibras (IARC, 2012). A associação entre a exposição aos asbestos e o aparecimento de doenças desencadeou uma série de pesquisas relacionadas aos tipos de fibra, tamanho, composição, durabilidade e biopersistência nos tecidos pulmonares (BECKLAKE; BAGATIN; NEDER, 2007).

Em maior ou menor grau, todas as formas de asbestos são potencialmente carcinogênicas e estudos epidemiológicos, ensaios clínicos e laboratoriais foram capazes de induzir câncer de pulmão, mesoteliomas e uma grande variedade de doenças decorrentes da exposição aos asbestos (LANDRIGAN, 1998). Porém, os mecanismos pelos quais essas fibras produzem malignidade e toxicidade não estão completamente elucidados e não são completamente independentes, podendo estar relacionados uns com os outros. Há evidências de que os eventos incluem: stress oxidativo, alterações genéticas e epigenéticas e inflamações (HUANG et al., 2011).

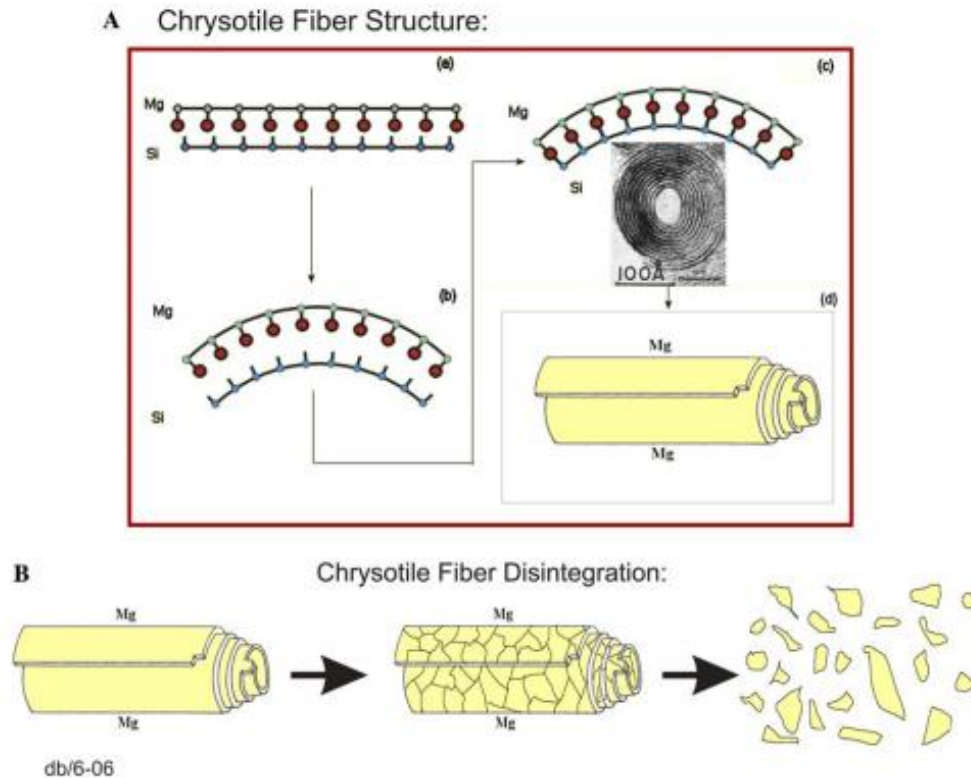
#### 1.4 O uso da crisotila

Os minerais do tipo anfibólios são fibras finas e pontiagudas, muito mais resistentes a ataques químicos (de ácidos e bases fortes) e físicos (alta durabilidade), conseqüentemente possuem uma biopersistência maior nos pulmões (ADDISON; MCCONNELL, 2008). As fibras do tipo anfibólio foram substituídas gradualmente pelas serpentinas, principalmente pela crisotila, por serem mais maleáveis, solúveis e apresentarem uma menor biopersistência nos pulmões (BECKLAKE et al., 2007; BERNSTEIN et al., 2005). A crisotila é o tipo predominante de asbesto produzido e consumido hoje em dia e representava 98,5% do consumo dos Estados Unidos na década de 1990, sendo que o principal uso é na indústria de fibrocimento (STAYNER et al., 1996).

As fibras do tipo anfibólio são muito diferentes da crisotila, já que possuem uma estrutura muito mais complexa; essa diferença reflete na fórmula química e conseqüentemente na acomodação e organização dos átomos. A fórmula química da crisotila é  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$  e, apesar de todos os asbestos conterem sílica, as fibras de crisotila formam folhas de silicato tubulares ao invés de hastes, devido ao alinhamento dos íons de magnésio e sílica (BERNSTEIN; HOSKINS, 2006). Com o auxílio da microscopia eletrônica de transmissão é possível visualizar a ultraestrutura das fibras de crisotila com aspecto cristal tubular e uma estrutura composta por cilindros concêntricos (FALINI et al., 2006)

O magnésio tem uma grande importância na estrutura química da crisotila, corresponde cerca de 30% da molécula e está localizado na parte externa da molécula (na região exposta). A exposição do átomo de magnésio é interessante na medida em que é solúvel no líquido pulmonar, podendo facilmente reagir com os ácidos na superfície, diminuindo a estabilidade da molécula e promovendo a quebra da fibra (BERNSTEIN; HOSKINS, 2006). Dessa forma, a estrutura química da crisotila facilita o processo de quebra e desagregação das fibras quando misturadas a soluções aquosas ou ácidas (Figura 3).

Figura 3 – Estrutura e desintegração das fibras de crisotila.



(A) Estrutura da fibra de crisotila. (a,b,c) Esquema representativo da formação das folhas tubulares e (d) folha tubular formada. (B) Representação esquemática da desintegração das fibras de crisotila.

Fonte: Bernstein e Hoskins 2006

Esse é um fator considerado importante para a menor biopersistência das fibras de crisotila em relação às fibras do tipo anfibólios (BERNSTEIN; HOSKINS 2006). Embora as fibras de crisotila não se acumulem nos tecidos pulmonares de camundongos como as fibras do tipo anfibólio, devido a maior fragmentação, foram encontradas fibras de crisotila de até  $5\mu\text{m}$  nos tecidos pulmonares de camundongos após 400 dias de exposição à crisotila, sugerindo que os fragmentos menores podem permanecer nos tecidos por um longo período de tempo (BERNSTEIN et al., 2005).

Apesar das evidências encontradas em diferentes estudos, o uso da crisotila ainda é discutido, uma vez que ainda há controvérsias de interpretação e heterogeneidade dos dados de razões ainda desconhecidas, como por exemplo: a influência dos tipos, tamanhos e níveis de exposição às fibras diferem de indústria para indústria; o período de latência das doenças, a contaminação das minas de crisotila com outros minerais ou com outras fibras de asbestos; a comparação entre

os diferentes ensaios com animais e humanos, entre outros (IARC, 2012; YARBOROUGH, 2007).

Uma questão particularmente discutida é a menor potência da crisotila frente à indução de câncer de pulmão e outras doenças em relação aos asbestos do tipo anfibólios, isso é denominado de “hipótese anfibólio”. Este argumento é principalmente baseado na baixa biopersistência observada após exposição às fibras de crisotila; porém, nem sempre esta menor biopersistência está relacionada com a menor toxicidade e potência na indução de doenças (IARC, 2012).

O uso da crisotila no mercado mundial é considerado seguro devido à fragmentação das fibras em pedaços pequenos, como discutido anteriormente, o que contribui para uma menor biopersistência nos pulmões. Porém, fragmentos menores que 5µm são capazes de atravessar o pulmão e alcançar a pleura, podendo acumular-se neste tecido ou serem translocadas para outras regiões do corpo, como nódulos linfáticos e tecidos mesoteliais. O acúmulo dessas fibras de crisotila na região pleural é frequentemente observado em mesoteliomas e placas pleurais, sugerindo que as fibras de crisotila são capazes de induzir mesoteliomas malignos (KANAREK, 2011; SUZUKI; YUEN, 2001).

Estudos indicam que células humanas em cultura tratadas com crisotila tem um aumento da formação dos micronúcleos (DOPP et al., 1997; POSER et al., 2004) e aberrações cromossômicas ocasionadas por quebras duplas no DNA (OKAYUSU et al., 1999). Também foi observada em culturas de células humanas expostas à crisotila a presença de mitoses aberrantes e fusos multipolares que podem originar células aneuplóides (CORTEZ et al., 2011).

Um estudo epidemiológico realizado com trabalhadores de fábricas têxteis avaliou o tamanho das fibras de crisotila e a prevalência de certas doenças. Embora o tamanho das fibras avaliadas tenha sido estimado em relação aos locais onde os trabalhadores se encontravam, neste estudo foi verificado que fibras curtas (< 5µm) estão mais relacionadas às asbestoses e fibras longas (> 5µm) com câncer de pulmão (LOOMIS et al., 2012; STAYNER et al., 2008).

As fibras de crisotila também possuem efeitos sobre a morte e a proliferação celular. Células epiteliais de pulmão expostas a crisotila (A549) apresentam uma diminuição de proteínas relacionadas a proliferação celular e a observação da ultraestrutura dessas células indica um aumento da apoptose celular quando em

contato com as fibras, sugerindo uma possível relação entre citotoxicidade das fibras e a diminuição da proliferação (GIANTOMASSI et al., 2010).

Através da microscopia eletrônica de transmissão, é possível observar a morfologia das fibras no interior das células que se apresentam envoltas pela membrana plasmática ou livres no citosol, indicando que podem haver diferentes repostas celulares relacionadas à internalização dessas fibras e sugerindo também que as fibras pequenas podem ser capazes de interagir com proteínas no citosol (MACCORKLE et al., 2006)

### **1.5 Receptores *scavenger***

A inalação de partículas contendo sílica desencadeia um processo de reconhecimento e ligação entre as células e as partículas, de acordo com as características físicas da superfície do material e da ligação com os receptores específicos. Esse reconhecimento inicial desencadeia o processo de fagocitose mediado inicialmente pelos macrófagos alveolares (HAMILTON; THAKUR; HOLIAN, 2007).

As fibras de crisotila, assim como as demais fibras de asbestos, possuem sílica na sua composição e, por isso, podem apresentar uma superfície com carga negativa ou positiva, dependendo da sua composição e de sua integridade estrutural (VIRTA, 2005). Estudos indicam que partículas contendo sílica podem ser fagocitadas com a participação de receptores *scavenger*, já que estes possuem uma região positiva (DOI et al., 1993). Essa ligação foi observada entre crocidolita e receptores *scavenger*, sugerindo a participação destes receptores na internalização de fibras de asbestos (ANDERSSON; FREEMAN, 1998).

Os receptores *scavenger* são um grupo diverso de proteínas de superfície celular, sendo alguns com domínios múltiplos, envolvidas na adesão celular e agrupadas em uma única família por possuírem ligantes comuns que incluem: lipoproteínas modificadas de baixa densidade, polinucleotídeos e poliânions compostos, partículas fagocitáveis, bactérias, polissacarídeos e células apoptóticas (MARTÍNEZ et al., 2011; SANTIAGO-GARCIA et al., 2003).

A ampla capacidade de reconhecimento de ligantes sugere que estes receptores têm propriedades que podem ser importantes para a ativação de

mecanismos de imunidade celular inata, já que agem como receptores de reconhecimento de padrão (PRR), ou seja, capazes de reconhecer diferentes estruturas de patógenos (CHAO et al., 2001; PEARSON, 1996).

Inicialmente os receptores *scavenger* foram funcionalmente classificados como receptores capazes de ligar-se em lipoproteínas de baixa densidade acetiladas e oxidadas, tendo uma importante participação na formação de aterosclerose (ARESCOUD; GORDON, 2009). Sabe-se que hoje esta família de proteínas é ampla e compreende 8 classes de proteínas de membrana e também solúveis, agrupados de A a H de acordo com os domínios estruturais comuns (STEPHEN et al., 2010). Os receptores são encontrados em diversos grupos de animais vertebrados e invertebrados e em muitos tipos celulares diferentes, como: monócitos, células B, células endoteliais e em macrófagos (BOWDISH; GORDON, 2009).

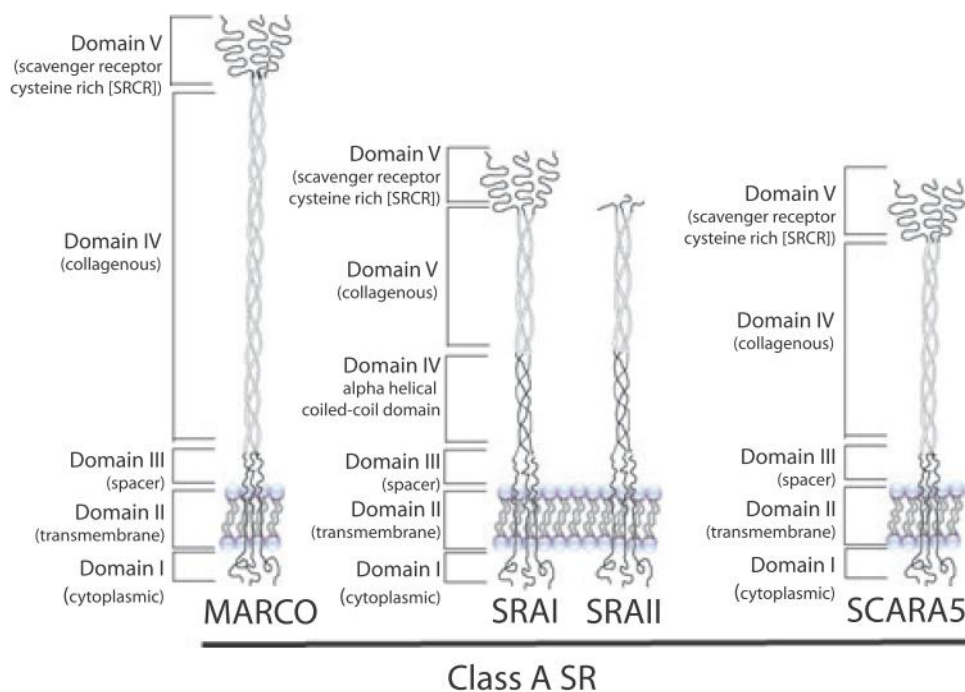
Alguns desses receptores *scavenger* estão associados com a internalização de ligantes contendo sílica e pertencem à classe A e B, sendo expressos em diferentes tipos celulares (HAMILTON; THAKUR; HOLIAN, 2007). Os receptores pertencentes à classe A que estão associados a ligantes com sílica são: o receptor *scavenger* A (SR-A) e o receptor *scavenger* de macrófago com estrutura de colágeno (MARCO), ambos expressos em macrófagos e o receptor *scavenger* tipo A-5 (SCARA5) expresso principalmente em células epiteliais especializadas. Na classe B há o receptor CD36, expresso em macrófagos, mas também em células endoteliais, epiteliais, adipócitos e leucócitos (STEPHEN et al., 2010).

O receptor *scavenger* A (SR-A) foi o primeiro a ter a sua estrutura predita por Kodama e colaboradores em 1998 a partir de células de fígado e pulmão bovino. O SR-A é uma proteína transmembrana que consiste em seis domínios, incluindo o domínio de colágeno e o domínio rico em cisteína (Figura 4) (GREAVES; GORDON, 2009). Este receptor apresenta três isoformas (SR-AI, SR-AII e SR-AIII) e é expresso em macrófagos, células endoteliais e de músculo liso (STEPHEN et al., 2010).

O receptor *scavenger* com estrutura de colágeno (MARCO) é bastante semelhante ao SR-A, diferindo principalmente no tamanho do domínio de colágeno, como pode ser observado na figura 4. É expresso constitutivamente em macrófagos e células dendríticas (BOWDISH; GORDON, 2009). Assim como o SR-A, o receptor MARCO é uma glicoproteína transmembrana trimérica, com cinco domínios.

O receptor *scavenger* tipo A-5 (SCARA5) foi caracterizado como pertencente à família dos receptores *scavenger* recentemente por Jiang e colaboradores em 2006. Este receptor também é caracterizado por ser uma proteína trimérica com cinco domínios (Figura 4) e foi encontrada com expressão restrita a: testículo, traqueia, pulmão, bexiga e intestino. Embora não tenha nenhum trabalho que relacione este receptor com a internalização de compostos contendo sílica, este foi estudado no presente trabalho, visto que é um receptor *scavenger* expresso em células epiteliais especializadas.

Figura 4 – Estrutura dos receptores *scavenger* pertencentes à classe A.



Fonte: Modificado de Bowdish e Gordon, 2009

O único representante da família da classe B dos receptores *scavenger* que até o momento parece estar relacionado com a internalização de compostos contendo sílica é o receptor CD36. Da mesma forma que os outros *scavenger*, este receptor também é uma glicoproteína de membrana, porém estruturalmente é diferente dos anteriores descritos, já que possui uma grande alça extracelular (figura 5) (PEISER; GORDON, 2001). Além de ser expresso em diferentes tipos celulares, o CD36 possui múltiplas funções, estando também associado a diferentes ligantes,

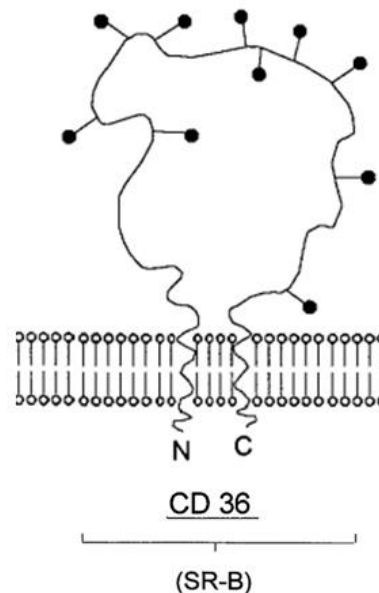


entre eles a trombospondina que tem um importante papel na resposta inflamatória (SILVERSTEIN; FEBBRAIO, 2009).

Estudos relacionando o receptor CD36 com a internalização de compostos contendo sílica ainda são controversos, uma vez que é possível encontrar na literatura tanto informações sobre a participação deste receptor em processos inflamatórios decorrentes do uso da sílica (WANG et al., 2010) como o não envolvimento deste receptor com a toxicidade mediada pela sílica (HAMILTON; THAKUR; HOLIAN, 2007).

Figura 5 – Estrutura do receptor *scavenger* CD36, pertencente à classe B.

● — potenciais sítios de glicosilação



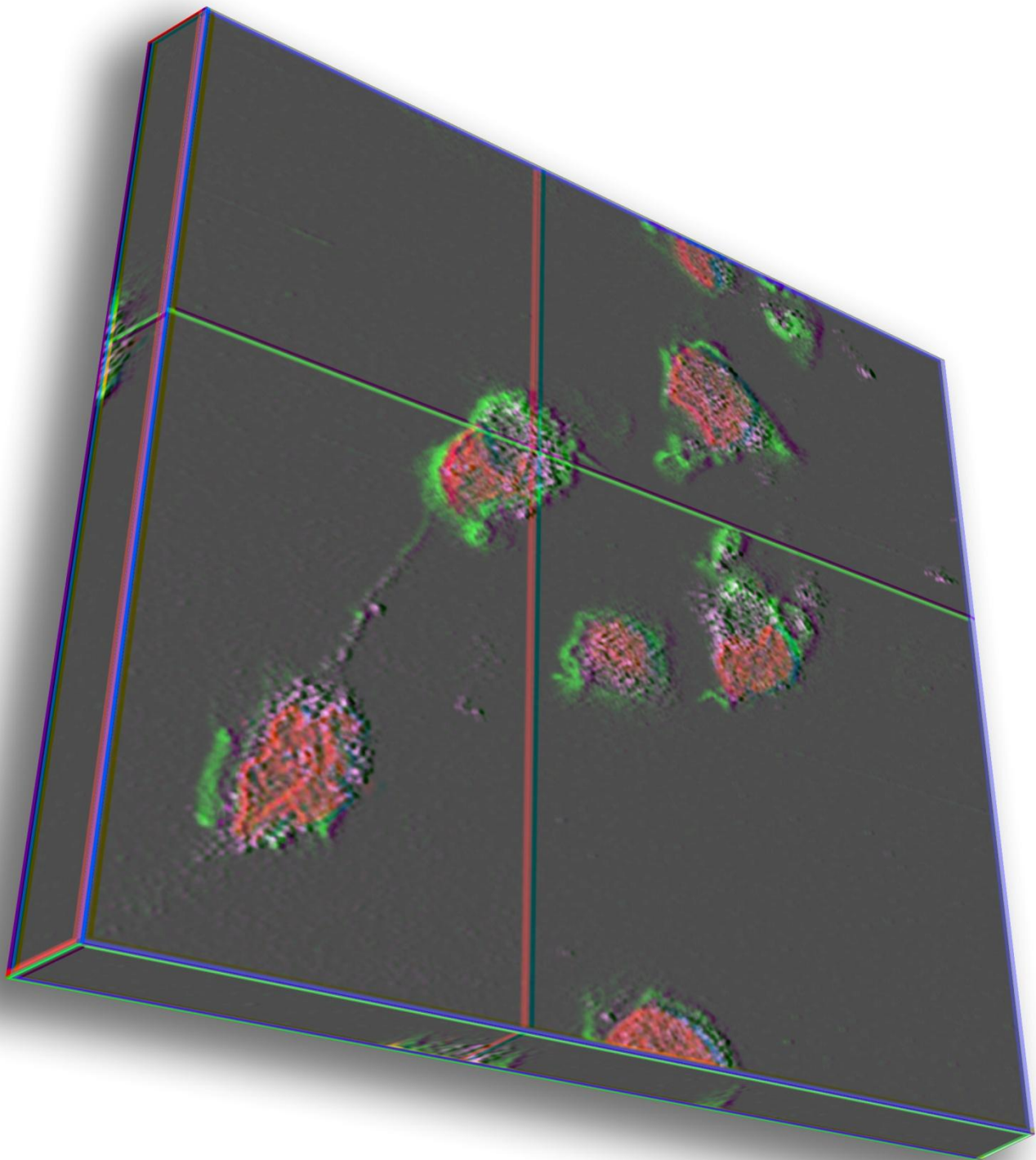
Fonte: Modificado de Peiser e Gordon, 2001

Alguns trabalhos demonstram que há uma estreita relação entre toxicidade induzida por sílica e receptores *scavenger*, pois quando células são pré-tratadas com inibidores para receptores *scavenger* ou quando macrófagos alveolares de uma linhagem de camundongo knockout para receptores *scavenger* são expostos a partículas contendo sílica na sua composição, a toxicidade é bastante reduzida, apesar de não ser completamente eliminada (BEAMER; HOLIAN, 2005; IYER et al., 1996). Também foi verificado que macrófagos alveolares de camundongo em cultura podem sofrer apoptose e ativação das caspases, quando em contato com

sílica, mediadas por receptores *scavenger* e que esses efeitos eram minimizados na presença de inibidores de SR-A. (CHAO et al., 2001).

É possível perceber que há uma grande quantidade de receptores *scavenger* para funções e ligantes muito semelhantes, resultando em um fenômeno denominado de redundância funcional. Essa multiplicidade de receptores *scavenger* sugere que há funções importantes que não são somente limitadas a endocitose, mas também a adesão celular, cascata de sinalização intracelular e o transporte de partículas com diferentes cargas (GREAVES; GORDON, 2009; HAMILTON et al., 2006)

Os conjuntos dos dados descritos acima sugerem que os receptores *scavenger* tem um papel importante na indução de citotoxicidade por sílica. Entender como ocorre à interação de fibras de crisotila com as células é o primeiro passo para compreender o processo de indução da toxicidade gerada por danos ao material genético da célula. O processo de toxicidade induzida pelas fibras de asbestos ainda não está completamente elucidado, há várias hipóteses e ainda há muito a explorar.

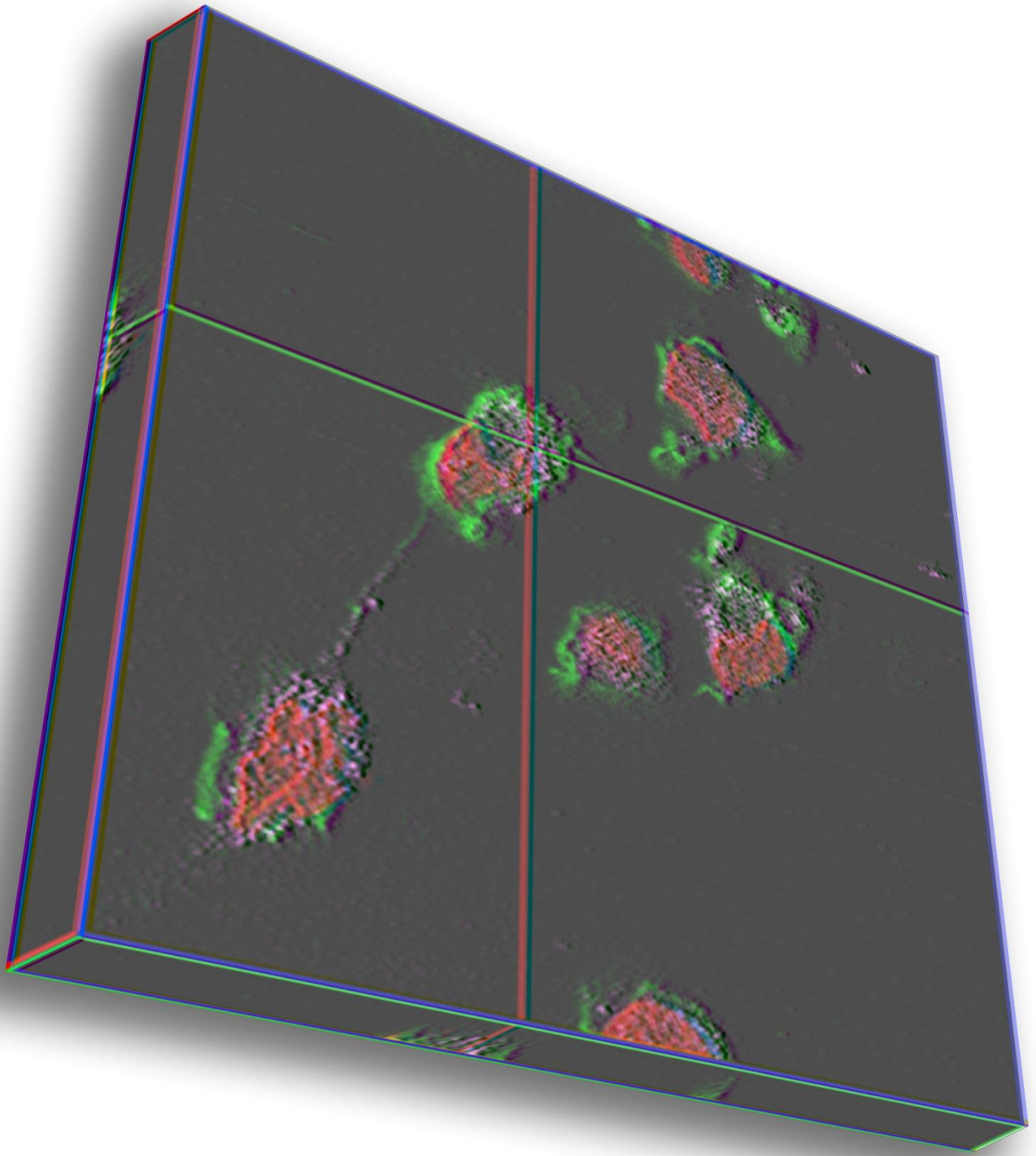


***6\_CONCLUSÕES***

O presente trabalho mostra que a internalização de fibras de crisotila em ambas as linhagens celulares estudadas, possivelmente ocorre por duas vias diferentes: uma via endocítica, com fibras envoltas por membrana plasmática, e outra por interação física, perfuração da membrana resultando em fibras livres no citosol. Há também uma clara interação entre elementos do citoesqueleto e as fibras de crisotila, já que além da colocalização destes houve aumento da expressão relativa de RNA com diversos elementos do citoesqueleto. Essa interação pode ser responsável pela interferência em processos celulares que geram falhas na divisão celular, um dos fatores que pode ser determinante na citotoxicidade das fibras de crisotila.

Os receptores *scavenger* parecem interferir no processo de internalização das fibras de crisotila, sendo que alguns dos receptores estudados apresentaram modificação na sua expressão relativa de RNA e proteica após a exposição às fibras de crisotila, como o SR-A e SCARA5. Além disso, nosso trabalho foi o primeiro a encontrar relação entre o receptor SCARA5 e fibras de crisotila.

Para compreender melhor os processos de internalização de fibras de crisotila pelos receptores *scavenger*, mais estudos deverão ser realizados e alguns inibidores poderão ser utilizados.



## ***REFERÊNCIAS***

## REFERÊNCIAS<sup>6</sup>

- ADDISON, J.; MCCONNELL, E. E. A review of carcinogenicity studies of asbestos and non-asbestos tremolite and other amphiboles. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 52, p. 187–199, 2008.
- ANDERSSON, L.; FREEMAN, M. W. Functional changes in *scavenger* receptor binding conformation are induced by charge mutants spanning the entire collagen domain. **J. Biol. Chem**, v. 273, p. 19592–19601, 1998.
- ARESCOUG, T.; GORDON, S. Microreview *Scavenger* receptors: role in innate immunity and microbial pathogenesis. **Cellular Microbiology**, v. 11, n. 8, p. 1160–1169, 2009.
- BEAMER, C. A.; HOLIAN, A. *Scavenger* receptor class A type I/II (CD204) null mice fail to develop fibrosis following silica exposure. **Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.**, v. 289, p. 186–195, 2005.
- BECKLAKE, M. R.; BAGATIN, E.; NEDER, J. A. Asbestos-related diseases of the lungs and pleura: uses, trends and management over the last century. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v.11, n.4, p.356–369, 2007.
- BERNSTEIN D.; CASTRANOVA, V.; DONALDSON, K.; FUBINI, B.; HADLEY, J.; HESTERBERG, T.; KANE, A.; LAI, D.; MCCONNELL, E. E.; MUHLE, H.; OBERDORTER, G.; OLIN, S.; WARHEIT, D. B. Testing of fibrous particles: short-term assays and strategies. **Inhal. Toxicol.**, v. 17, p. 497–537, 2005.
- BERNSTEIN, D. M.; CHEVALIER, J.; SMITH, P. Comparison of Calidria chrysotile asbestos to pure tremolite: final results of the inhalation biopersistence and histopathology examination following short-term exposure. **Inhal. Toxicol**, v. 17, p. 427-449, 2005.
- BERNSTEIN, D. M.; HOSKINS, J. A. The health effects of chrysotile: Current perspective based upon recent data. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. v. 45, p. 252–264, 2006.
- BONALDO, M. F.; PESTANA, C. B.; RIBEIRO, M. C.; MACHADO-SANTELLI, G. M.; MORI, L.; OLIVEIRA, A. R. Comparative characterization of a human large cell lung carcinoma cell line and the xenograft derived cell line. **Cell. Biol. Int. Rep.**, v. 15, n. 3, p. 229-241, 1991.
- BOWDISH, D. M. E.; GORDON, S. Conserved domains of the class A *scavenger* receptors evolution and function. **Immunological Reviews**, v. 227, p. 19–31, 2009.

---

<sup>6</sup> De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BUSTIN, S. A. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 29, p. 23–39, 2000.

BUSTIN, S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 25, p. 169–193. 2002.

CABEC, V. LE.; CARRENO, S.; MOISAND, A.; BORDIER, C.; MARIDONNEAU-PARINI, I.; Complement receptor 3 (CD11b/CD18) mediates type I and type II phagocytosis during nonopsonic and opsonic phagocytosis, respectively. **J. Immunol.**, v. 169, p. 2003–2009, 2002.

CHAO, S. K.; HAMILTON, R. F.; PFAU, J. C.; HOLIAN, A. Cell surface regulation of silica-induced apoptosis by the SR-A scavenger receptor in a murine lung macrophage cell line (MH-S). **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 174, p. 10–16, 2001.

CHEN, Q.; ROSS, C. Retinoic acid regulates cell cycle progression and cell differentiation in human monocytic THP-1 cells. **Exp. Cell. Res.**, v. 297, n. 1, p. 68–81, 2004.

CORTEZ, B. de A.; QUASSOLLO, G.; CACERES, A.; MACHADO-SANTELLI, G. M. The fate of chrysotile-induced multipolar mitosis and aneuploid population in cultured lung cancer cells. **PLoS One**, v. 6, n. 4, p. 1–13, 2011.

CORTEZ, B. A.; MACHADO-SANTELLI, G. M. Chrysotile effects on human lung cell carcinoma in culture: 3-D reconstruction and DNA quantification by image analysis. **BMC Cancer**, v. 8, n. 181, p. 1–10, 2008.

CRAIGHEAD, J. E.; GIBBS, A. R. **Asbestos and its diseases**. New York: Oxford University Press, 2008.

DOI, T.; HIGASHINO, K.; KURIHARA, Y.; WADA, Y.; MIYAZAKI, N.; NAKAMURA, H.; UESUGI, S.; IMANISHI, T.; KAWABE, Y.; ITAKURA, H.; YAZAKI, Y.; MATSUMOTO, A.; KODAMA, T. Charged collagen structure mediates the recognition of negatively charged macromolecules by macrophage scavenger receptors. **J. Biol. Chem.**, v. 268, p. 2126–2133, 1993.

DOPP, E.; SCHULER, M.; SCHIFFMANN, D.; EASTMOND, D. A. Induction of micronuclei, hyperdiploidy and chromosomal breakage affecting the centric/pericentric regions of chromosomes 1 and 9 in human amniotic fluid cells after treatment with asbestos and ceramic fibers. **Mutat. Res.**, v. 377, p. 77–87, 1997.

FALINI, G.; FORESTI, E.; LESCI, I. G.; LUNELLI, B.; SABATINO, P.; ROVERI, N. Interaction of Bovine Serum Albumin with Chrysotile: Spectroscopic and Morphological Studies. **Chem. Eur. J.**, v. 12, p. 1968–1974, 2006.

GIANTOMASSI, F.; GUALTIERE, A. F.; SANTARELLI, L.; TOMASETTI, M.; LUSVARDI, G.; LUCARINI G.; GOVERNA, M.; PUGNALONI, A. Biological effects and comparative cytotoxicity of thermal transformed asbestos-containing materials in a human alveolar epithelial cell line. **Toxicology in Vitro**, v. 24, p. 1521–1531, 2010.

GREAVES, D. R.; GORDON, S. The macrophage *scavenger* receptor at 30 years of age: current knowledge and future challenges. **Journal of Lipid Research** April Supplement, 2009

HAMILTON J. R, Jr.; THAKUR, S. A.; MAYFAIR, J. K.; HOLIAN, A. MARCO Mediates Silica Uptake and Toxicity in Alveolar Macrophages from C57BL/6 Mice. **The journal of biological chemistry**, v. 281, n. 45, p. 34218–34226, 2006.

HAMILTON, R. F.; THAKUR, S. A.; HOLIAN, A. Silica binding and toxicity in alveolar macrophages. **Free Radical Biology e Medicine**, v. 44, p. 1246–1258, 2007.

HUANG, S. X. L.; JAURAND, M. C.; KAMP, D. W.; WHYSNER, J.; HEI, T. K. Role of mutagenicity in asbestos fiber-induced carcinogenicity and other disease. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 14, p. 179–245, 2011.

HUANG, J.; ZHENG, D. L.; QIN, F. S.; CHENG, N.; CHEN, H.; WAN, B. B.; WANG, Y. P.; XIAU, H. S.; HAN, Z. G.; Genetic and epigenetic silencing of SCARA5 may contribute to human hepatocellular carcinoma by activating FAK signaling. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 1, p. 223-241, 2010.

IARC. A Review of Human Carcinogens: Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts. **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**, 2012

IYER, R.; HAMILTON, R. F.; LI, L.; HOLIAN, A. Silica-induced apoptosis mediated via *scavenger* receptor in human alveolar macrophages. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 141, p. 84–92, 1996.

JIANG, Y.; OLIVER, P.; DAVIES, K. E.; PLATT, N. Identification and Characterization of Murine SCARA5 a Novel Class A *Scavenger* Receptor That Is Expressed by Populations of Epithelial Cells. **Journal. of Biol. Chem.**, v. 281, p. 11834–1184, 2006.

KANAREK, M. S. Mesothelioma from chrysotile asbestos: update. **Ann. Epidemiol.**, v. 21, n. 9 p. 688-697, 2011.

KODAMA, T.; FREEMAN, M.; ROHRER, L.; ZABRECKY, J.; MATSUDAIRA, P.; KRIEGER, M. Type I macrophage *scavenger* receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. **Nature**, v. 343, p. 531–535, 1990.

LADOU, J. The asbestos câncer epidemic. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 3, p. 285-290, 2004.

LANDRIGAN, P. J. Asbestos- Still a carcinogen. **N. Engl. J. Med**, v. 338, p. 1618-1619, 1998.



LIU, W.; ERNST, J. D.; BROADDUS, V. C. Phagocytosis of crocidolite asbestos induces oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mesothelial cells. **Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.**, v. 3, p. 371–378, 2000.

LOOMIS, D.; DEMENT, J. M.; ELLIOTT, L.; RICHARDSON, D.; KUEMPEL, E. D.; STAYNER, L. Increased lung cancer mortality among chrysotile asbestos textile workers is more strongly associated with exposure to long thin fibres. **Occup. Environ. Med.**, v. 69, p. 564-568, 2012.

MACCORKLE, R. A.; SLATTERY, S. D.; NASH, D. R.; BRINKLEY, B. R.; Intracellular protein binding to asbestos induces aneuploidy in human lung fibroblasts. **Cell Motility and the Cytoskeleton**, v.63, p.646–657, 2006.

MALORNI, W.; IOSI, F.; FALCHI, M. DONELLI, G. On the mechanism of cell internalization of chrysotile fibers: an immunocytochemical and ultrastructural study. **Environ. Res.**, v. 52, n. 2, p. 164-177, 1990.

MARTÍNEZ, V. G.; MOESTRUP, S. K.; HOLMSKOV, U.; MOLLENHAUER, J.; LOZANO, F. The Conserved *Scavenger* Receptor Cysteine-Rich Superfamily in Therapy and Diagnosis. **Pharmacol. Rev.**, v. 63, p. 967–1000, 2011.

MURRAY, R. Asbestos: a chronology of its origins and health effects. **Br. J. Ind. Med.**, v. 47, p. 361-365, 1990.

NAITO, M.; KODAMA, T.; MATSUMOTO, A.; DOI, T.; TAKAHASHI, K., Tissue Distribution, Intracellular Localization, and In Vitro Expression of Bovine Macrophage *Scavenger* Receptors. **American Journal of Pathology**, v. 139, n. 6, p. 1411-1423, 1991

NAGAI, H.; ISHIHARA, T.; LEE, W. H.; OHARA, H.; OKAZAKI, Y.; OKAWA, K.; TOYOKUNI, S. Asbestos surface provides a niche for oxidative modification. **Cancer Science**, v. 102, p. 2118–2125, 2011.

NISHIKAWA K.; TAKAHASHI K.; KARJALAINEN A.; WEN, C. P.; FURUYA, S.; HOSHUYAMA, T.; TODOROKI, M.; KIYOMOTO, Y.; WILSON, D.; HIGASHI, T.; OHTAKI, M.; PAN, G.; WAGNER, G. Recent mortality from pleural mesothelioma, historical patterns of asbestos use, and adoption of bans: a global assessment. **Environ. Health Perspect.**, v. 116, p. 1675–1680, 2008.

OKAYUSU R.; TAKAHASHI, S.; YAMADA, S.; HEI, T. K.; ULLRICH R. L. Asbestos and DNA double strand breaks. **Cancer Res.**, v. 59, p. 298–300, 1999.

ORR, G. A.; CHRISLER, W. B.; CASSENS, K. J.; TAN, R.; TARASEVICH, B. J.; MARKILLIE, L. M.; ZANGAR, R. C.; THRALL, B. D. Cellular recognition and trafficking of amorphous silica nanoparticles by macrophage *scavenger* receptor A. **Nanotoxicology**, v. 5, n. 3, p. 296-311, 2011.

PARK, E. K.; TAKAHASHI, K.; JIANG, Y.; MOVAHED, M.; KAMEDA, T. Elimination of asbestos use and asbestos-related diseases: An unfinished story. **Cancer Sci.** 2012.

PEISER, L.; GORDON, S. The function of *scavenger* receptors expressed by macrophages and their role in the regulation of inflammation. **Microbes and Infection**, v. 3, p. 149-159, 2001.

PEARSON, A. M. *Scavenger* receptors in innate immunity. **Curr. Opin. Immunol**, v. 8. p. 20–28, 1996.

POSER, I.; RAHMAN, Q.; LOHANI, M.; YADAV, S.; BECKER, H. H.; WEISS, D. G.; SCHIFFMANN, D.; DOPP, E. Modulation of genotoxic effects in asbestos-exposed primary human mesothelial cells by radical *scavenger*, metal chelators and a glutathione precursor. **Mutation Research**, v. 559, p. 19–27, 2004.

ROSS, M.; NOLAN, R. P. History of asbestos discovery and use and asbestos-related disease in context with the occurrence of asbestos within ophiolite complexes. **Geological Society of America**, v. 373 p. 447- 470, 2003.

SANTIAGO-GARCIA J.; KODAMA, T.; PITAS, R. E. The class A *scavenger* receptor binds to proteoglycans and mediates adhesion of macrophages to the extracellular matrix. **J. Biol. Chem.**, v. 278, p. 6942–6946, 2003.

STAYNER, L.; DANKOVIC, D. A.; LEMEN, R. A.; Occupational exposure to chrysotile asbestos and Cancer Risk: A review of the amphibole hypothesis. **American Journal of Public Health**, v. 86, n. 2, p. 179-186, 1996.

STAYNER, L.; KUEMPEL, E.; GILBERT, S.; HEIN, M.; DEMENT, J. An epidemiological study of the role of chrysotile asbestos fibre dimensions in determining respiratory disease risk in exposed workers. **Occup. Environ. Med.** v. 65, p. 613–619, 2008

STEPHEN, S. L.; FREESTONE, K.; DUNN, S.; TWIGG, M. W.; HOMER-VANNIASINKAM, S.; WALKER, J. H.; WHEATCROFT, S. B.; PONAMBALAM, S. *Scavenger* Receptors and Their Potential as Therapeutic Targets in the Treatment of Cardiovascular. **Disease Int. J. Hypertens.**, Review Article p. 1-20, 2010

STROHMEIER, B. R.; HUNTINGTON, J. C.; BUNKER, K. L.; SANCHEZ, M. S.; ALLISON, K.; LEE, R. J. What is asbestos and why is it important? Challenges of defining and characterizing asbestos. **International Geology Review**, v.52, n.7–8, p. 801-872, 2010.

SILVERSTEIN, L. R.; FEBBRAIO, M. CD36, a *Scavenger* Receptor Involved in Immunity, Metabolism, Angiogenesis, and Behavior. **Sci. Signal**, v. 2, n. 72, 2009.

SIGISMUND, S., WOELK, T., PURI, C., MASPERO, E., TACCHETTI, C., TRANSIDICO, P., DI FIORE, P. P., AND POLO, S. Clathrin-independent endocytosis of ubiquitinated cargos **Proc. Natl. Acad. Sci**, v.102, n. 8, p.2760–2765, 2005.

SUZUKI Y.; YUEN S. R. Asbestos tissue burden study on human malignant mesothelioma. **Industrial Health**, v.39, p.150–160, 2001.

SORKIN A.; VON ZASTROW, M. Signal transduction and endocytosis: close encounters of many kinds. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 3, p. 600–614, 2002.

VIRTA, R. L. **Mineral commodity profiles—Asbestos.** U.S. Geological Survey Circular 1255–KK, 2005. 56 p.

WANG, X.; LV, L.; CHEN, Y.; CHEN, J. A CD36 synthetic peptide inhibits silica-induced lung fibrosis in the mouse, **Toxicol. Ind. Health**, v. 26, n. 47, 2010.

YARBOROUGH, C. M. The risk of mesothelioma from exposure to chrysotile asbestos. **Current Opinion in Pulmonary Medicine**. v.13, p. 334–338, 2007.

ZHAO, D. S.; MA, G. F.; SELENIUS, M.; SALO, J.; PIKKARAINEN, T.; KONTTINEN Y. T. Ectopic expression of macrophage *scavenger* receptor MARCO in synovial membrane-like interface tissue in aseptic loosening of total hip replacement implants. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 92A, p. 641–649, 2009.

ZHU, X. D.; ZHUANG, Y.; BEN, J. J.; QIAN, L. L.; HUANG, H. P.; BAI, H.; SHA, J. H.; HE, Z. G.; CHEN, Q. Caveolae-dependent Endocytosis Is Required for Class A Macrophage *Scavenger* Receptor-mediated Apoptosis in Macrophages. **The Journal of biology chemistry**. v. 286, n. 10, p. 8231-8239, 2011.