

Anticuerpos Contra Ldl-Ox y Síndrome Coronario Agudo

Ana Maria Brito Medeiros¹, Carlos Alberto von Mühlen¹, Magnus Ake Gidlund², Rodrigo Bodanese¹, Maria G. V. Gottlieb¹, Luiz C. Bodanese¹

Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - Hospital São Lucas da PUCRS¹, Porto Alegre, RS; Universidade de São Paulo - USP², São Paulo, SP - Brasil

Resumen

Fundamento: La oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL-ox) induce a la formación de epítopos inmunogénicos en la molécula. La presencia de autoanticuerpos contra la LDL-ox ha sido demostrada en el suero de pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC). No obstante eso, el papel de esos autoanticuerpos en la fisiopatología de los síndromes coronarios agudos (SCA) y su significado clínico permanecen indefinidos.

Objetivo: Evaluar la asociación entre autoanticuerpos contra la LDL-ox y SCA.

Métodos: Los títulos de inmunoglobulina G autoanticuerpos contra la LDL-ox por cobre (antiLDL-ox) y contra el péptido sintético D derivado de la apolipoproteína B (antipeptD) fueron determinados por ensayo inmunoenzimático (ELISA) en 90 pacientes, en las primeras 12h de SCA (casos) y en 90 pacientes con EAC crónica (controles).

Resultados: Los resultados mostraron que los títulos de antiLDL-ox fueron significativamente más elevados ($p = 0,017$) en los casos ($0,40 \pm 0,22$), que en los controles ($0,33 \pm 0,23$). Por otro lado, los títulos de antipeptD fueron significativamente menores ($p < 0,01$) en los casos ($0,28 \pm 0,23$) que en los controles ($0,45 \pm 0,30$). La diferencia de los títulos de ambos anticuerpos entre los dos grupos estudiados fue independiente de edad, sexo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipidemia, índice de masa corporal, tabaquismo, perfil lipídico, uso de estatinas e historia familiar de EAC.

Conclusión: Los resultados mostraron que los títulos de antiLDL-ox fueron significativamente más elevados en los pacientes con síndrome coronario agudo cuando fueron comparados a los pacientes con enfermedad arterial coronaria y pueden estar asociados a inestabilidad de la placa aterosclerótica. (Arq Bras Cardiol 2010; 95(1) : 47-54)

Palabras clave: Lipoproteínas LDL, anticuerpos, síndrome coronario agudo.

Introducción

La lipoproteína de baja densidad (LDL) es la principal partícula transportadora de colesterol del plasma humano. La LDL posee un núcleo lipofílico formado de ésteres de colesterol y triglicéridos y una superficie polar constituida por colesterol no esterificado y fosfolípidos. Los fosfolípidos están envueltos por la apolipoproteína B-100 (apoB). La molécula de LDL contiene también antioxidantes liposolubles, como vitamina E, α y β caroteno, ubiquinol, entre otros¹. Mientras, bajo condiciones de stress oxidativo las partículas de LDL, que contienen ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), son fácilmente oxidadas y, consecuentemente, la apoB es modificada a través de la oxidación lipídica².

Debido a sus propiedades pro-inflamatorias y pro-aterogénicas, la lipoproteína de baja densidad oxidada

(LDL-ox) es un marcador de riesgo para las enfermedades cardiovasculares (ECV), pudiendo ocurrir su acción en el espacio subendotelial^{3,4}. Aunque atractivas, evidencias relevantes de que la hipótesis de que la LDL-ox contribuye a la aterosclerosis humana permanecen todavía no definitivamente establecidas, mereciendo nuevos estudios bien delineados, que puedan establecer su contribución en la fisiopatología de la aterosclerosis⁵.

Algunas evidencias sugieren que autoanticuerpos IgG para la LDL-ox están asociados con propiedades pro-aterogénicas y autoanticuerpos IgM para la LDL-ox desempeñan un papel ateroprotector⁶. La clase IgM, que reconoce epítopos específicos para la oxidación, puede estar envuelta en la captación y desintoxicación de lípidos oxidados pro-inflamatorios³. De este modo, los autoanticuerpos IgG e IgM pueden tener acciones antagónicas.

Estudios recientes mostraron que pacientes con síndrome coronario agudo (SCA), incluyendo infarto agudo de miocardio (IAM) y angina inestable (AI), presentan niveles más elevados de antiLDL-ox que pacientes con angina estable (AE) y controles ($p < 0,05$)⁷. Otros estudios cuestionan la efectiva contribución de los antiLDL-ox en

Correspondencia: Luiz Carlos Bodanese •

Rua Artur Rocha, 920/702 - Auxiliadora - 90450-170 - Porto Alegre, RS - Brasil

E-mail: bodanese@cardiol.br, lcbodanese@pucrs.br

Artículo recibido el 17/12/09; revisado recibido el 30/11/09; aceptado el 28/12/09.

la aterogénesis, no habiendo sido observadas diferencias significativas entre los títulos de estos anticuerpos en controles normales y en pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) crónica o aguda⁸.

Dentro de ese contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre autoanticuerpos contra la LDL-ox y SCA.

Métodos

Se realizó un estudio transversal controlado, en el cual fueron incluidos individuos de ambos sexos, con más de 40 años de edad, con diagnóstico de EAC, aguda o crónica, atendidos en el Hospital São Lucas de la PUCRS, de manera consecutiva, en el período de mar/2001-dec/2003.

También fueron incluidos pacientes con cuadro clínico de SCA sin supradesnivel persistente del segmento ST (SCASSST). El diagnóstico de SCASSST fue definido así: dos episodios de *angina pectoris*, o un episodio de *angina pectoris* en reposo, con más de 20 minutos de duración en las 24 horas precedentes a la hospitalización; sin supradesnivelamiento encima de 0,05 mV persistente del segmento ST; presencia o no de elevación de marcadores séricos de necrosis miocárdica o microembolización (creatina quinasa con fracción de MB encima de 20 U/l y/o troponina I encima de 0,05 mg/ml). El cuadro clínico en el momento de la internación hospitalaria fue estratificado según la clasificación de Braunwald⁹. El grupo control fue constituido por pacientes con EAC establecida, asintomáticos o con *angina pectoris* estable clase I, según la clasificación de la *Canadian Cardiovascular Society*¹⁰.

Fueron definidos como pacientes inelegibles aquellos que presentaron: presencia de bloqueo completo de rama izquierda; supradesnivel encima de 0,05 mV del segmento ST en el ECG de reposo, cirugía hace menos de tres meses, incluyendo cirugía de revascularización miocárdica; angioplastia coronaria percutánea hace menos de tres meses; neoplasias; disturbios hematológicos e inmunológicos conocidos; enfermedades del tejido conjuntivo o inflamatorias asociadas a la elevación de marcadores séricos. Se excluyeron, aún, pacientes en uso de medicación inmunosupresora, enfermedades inmunológicamente activas, neoplasias, SIDA, enfermedades de la tiroides y enfermedades gastrointestinales debilitantes e individuos que se negaron a firmar el término de consentimiento libre y aclarado.

Variables clínicas de interés

Sexo, edad, índice de masa corporal (IMC), hipertensión arterial (HA), diabetes mellitus (DM), dislipidemia, exposición crónica al tabaco (tabaquismo activo), historia familiar de EAC, uso de estatinas y dosaje sérico de la proteína-C-reactiva ultra-sensible (PCR-us).

El IMC fue calculado por la fórmula: peso, en quilogramos, dividido por la altura al cuadrado, en metros. Fue considerado obeso el individuo con índice ≥ 30 kg/m². Se consideró portador de HA al paciente con diagnóstico previo y/o en uso de fármacos antihipertensivos. Se consideró portador de DM al paciente con diagnóstico previo y/o en uso de terapia hipoglucemiante (dietética, insulino-terapia

o en tratamiento con fármacos hipoglucemiantes orales). Se consideró portador de dislipidemia al paciente con diagnóstico previo de alteraciones del perfil lipídico sérico y/o en uso de fármacos hipolipemiantes.

Los tabaquistas fueron estratificados en: fumadores activos, aquellos individuos con hábito de fumar actual y que habían fumado en el último año; ex-fumantes, los individuos que habían abandonado el hábito de fumar hace más de un año; y no fumadores.

La historia familiar de EAC fue considerada positiva en aquellos individuos cuyos familiares en primer grado tuviesen presentado mortalidad cardiovascular precoz (< 55 años en hombres y < 65 años en mujeres).

Variables de laboratorio

Anticuerpos IgG contra la LDL-ox y contra el peptD y PCR-us fueron medidos en el plasma de casos y de controles por ensayo inmunoenzimático (ELISA).

El perfil lipídico y la composición proteica de la LDL fueron determinados por el método de Lowry¹¹. El contenido de colesterol total y de triacilglicerol fue dosado por método enzimático¹². La detección de anticuerpos IgG contra la LDL-ox generados en el suero de casos y controles, así como anticuerpos IgG contra el péptido sintético D derivado de la apoB (antipeptD IgG) y el dosaje de la IgG total, fue hecho por técnica de *ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)*¹³.

Los análisis de laboratorio fueron determinados por ensayo inmunoenzimático en las primeras 12 horas después de definido el cuadro clínico de SCA, almacenadas en freezer a -70°C y posteriormente encaminadas para análisis en el Instituto de Inmunofisiopatología de la Universidad de San Pablo.

Cálculo de tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue calculado a priori. Para detectar una diferencia de por lo menos 70 unidades en la densidad óptica del título sérico medio de IgG antiLDL-ox entre casos y controles, fue estimado un tamaño de muestra de 86 pacientes por grupo de estudio, considerándose el desvío estándar para IgG antiLDL-ox de 140 unidades, $\alpha = 0,05$ y poder estadístico de 90% ($\beta = 0,10$).

Análisis estadístico

La adherencia a la distribución normal (gaussiana) de la distribución de los valores de antiLDL-ox y de antipeptD en los dos grupos de estudio fue evaluada por el test de Kolmogorov-Smirnov (K-S). El test de Mann-Whitney fue usado para comparar los resultados de la determinación sérica media de anticuerpos IgG contra la LDL-ox, IgG contra el péptido D y de la IgG total entre casos y controles.

La significancia de las asociaciones entre variables categóricas fue analizada por el test exacto de Fischer y, entre variables continuas, por el test de Mann-Whitney. Las variables intervinientes fueron controladas por regresión lineal múltiple. Los análisis de sensibilidad y de especificidad de valores de corte de antiLDL-ox para diagnóstico de SCA fueron hechos por curva ROC (*receiver operating characteristic*).

Los resultados fueron expresados como medias, más o menos el desvío estándar de la media. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando el valor de $p < 0,05$.

Aspectos éticos

El estudio fue sometido y aprobado por el CEP del Hospital São Lucas de la PUCRS (ID: 03/01533, aprobado el 13/06/2003).

Resultados

La Tabla 1 muestra las características demográficas, la prevalencia de factores de riesgo conocidos y los determinantes pronósticos seleccionados entre los dos grupos de estudio, así como la significancia entre las diferencias en los valores de tales variables entre los grupos. No se observó diferencia estadísticamente significativa en relación a la faja etaria de casos y controles, 62 ± 12 años y 64 ± 9 años, respectivamente ($p = 0,18$).

La distribución por sexo entre los grupos fue igualmente comparable, siendo que 49,0% de los casos y 53,0% de los controles eran del sexo masculino ($p = 0,65$). Los dos grupos tampoco difirieron en relación a la obesidad, siendo que un cuarto de los casos y un quinto de los controles presentaban índices de masa corporal $> 30 \text{ kg/m}^2$ ($p = 0,59$). De la misma forma, no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con relación al hábito actual de fumar (12,0% de fumadores activos en casos y 12,0% también en controles) y ni en referencia a la historia familiar de EAC ($p = 0,17$).

El diagnóstico previo de dislipidemia ($p = 0,12$), los valores medios de la colesterolemia ($p = 0,09$), de la trigliceridemia ($p = 0,76$) y el uso de fármacos reductores de la colesterolemia (estatinas) ($p = 0,11$) tampoco difirieron significativamente entre casos y controles.

Tabla 1 - Características de los grupos

Variable	SCA (n = 90)	EAC crónica (n = 90)	p
Edad (años)	62 ± 12	64 ± 9	0,18
Sexo masculino (n)	44	48	0,65
IMC $> 30 \text{ kg/m}^2$ (n)	22	18	0,59
Hipertensión arterial (n)	72	40	$< 0,01$
Diabetes mellitus (n)	32	16	0,01
Dislipidemia (n)	48	59	0,12
Fumante actual (n)	11	11	1
Ex-fumante (n)	17	50	$< 0,01$
Historia familiar EAC (n)	32	42	0,17
PCR-us (mg/l)	$1,7 \pm 3,4$	$0,6 \pm 0,9$	$< 0,01$
Colesterol total (mg/dl)	238 ± 80	258 ± 78	0,09
Triglicéridos (mg/dl)	175 ± 103	167 ± 106	0,76
Uso de estatinas (n)	36	47	0,11

Resultados expresados en números absolutos o en media \pm desvío-estándar de la media. SCA - síndrome coronario agudo; EAC - enfermedad arterial coronaria; IMC - índice de masa corporal; PCR-us - proteína C reactiva ultra-sensible.

La frecuencia de HA fue significativamente mayor en los casos que en los controles, 80,0% y 45,0%, respectivamente ($p < 0,01$), así como el diagnóstico previo de DM, presente en 35,0% de los casos y en 18,0% de los controles ($p = 0,01$). Más de la mitad del grupo control y un quinto del grupo de los casos eran ex-fumantes ($p < 0,01$). Los valores séricos de la PCR-us fueron significativamente mayores en los casos que en los controles ($p < 0,01$).

La concentración de IgG total no difirió significativamente entre los grupos ($p = 0,74$), como se ve en la Figura 1 y en la Tabla 2.

El título medio de IgG antiLDL-ox fue significativamente mayor en los casos ($0,40 \pm 0,22$) que en los controles ($0,33 \pm 0,22$), ($p = 0,017$) (Figura 2), y esta diferencia fue independiente de la distribución de otros factores de riesgo coronario en las muestras estudiadas ($p = 0,032$), (Tabla 2). El título medio de IgG antiptepD fue significativamente menor en los casos ($0,28 \pm 0,23$) que en los controles ($0,45 \pm 0,30$), ($p < 0,01$) (Figura 3), y esta diferencia fue independiente de la distribución de otros factores de riesgo coronario en las muestras estudiadas ($p < 0,01$), (Tabla 2).

La Tabla 3 presenta la significancia de las variables del modelo de regresión lineal múltiple adoptado en el análisis, donde el antiLDL-ox y el antiptepD, fueron usados independientemente. La hipertensión arterial, la diabetes, la dislipidemia, la condición de ex-fumante, la obesidad, la colesterolemia y la historia familiar de EAC fueron considerados como variables explicativas.

La diferencia entre los valores medios de los títulos séricos de antiLDL-ox en los dos grupos estudiados (Tabla 2), aunque estadísticamente significativa, fue pequeña ($p = 0,08$, IC 95% = $0,04 - 0,12$). Además de eso, el tamaño del efecto estandarizado, de aproximadamente 0,35, es considerado bajo.

El análisis de la curva ROC (Figura 4) no sugiere ningún punto de corte específico que tenga ventajas notorias sobre los

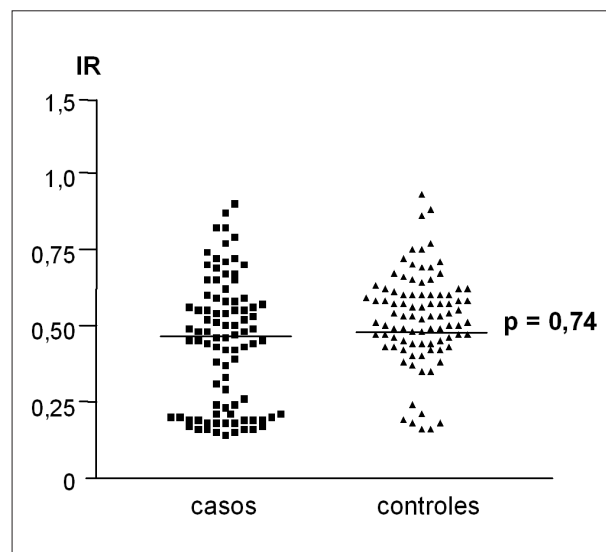


Fig. 1 - Distribución de los títulos séricos de IgG total expresados en IR, en casos y controles. IR - índice de reactividad.

Tabla 2 - Anticuerpos IgG antiLDL-ox y antiptepD expresados en IR

	SCA (casos)	EAC crónica (controles)	df**	IC 95%**	p
n	90	90			
IgG total (IR)	0,44 ± 0,21	0,45 ± 0,30			0,74
AntiLDL-ox (IR)	0,40 ± 0,22	0,33 ± 0,22			0,017*
AntiLDL-ox (IR)	0,40 ± 0,22	0,33 ± 0,22	0,08**	0,04-0,12**	0,032**
AntipeptD (IR)	0,28 ± 0,23	0,45 ± 0,30			<0,01*
AntipeptD (IR)	0,28 ± 0,23	0,45 ± 0,30			<0,01**

* valores obtenidos por test de Mann-Whitney. ** valores obtenidos en modelo de regresión lineal múltiple, ajustados para las siguientes variables: HAS, dislipidemia, diabetes, ex-fumante, obesidad, historia familiar y colesterol sérico. medias ± desvío-estándar de la media; df - estimativa de la diferencia entre los títulos séricos medios de IgG antiLDL-ox en los dos grupos de estudio; IC 95,0% - intervalo de confianza 95,0%; IgG - inmunoglobulina G; IR - índice de reactividad.

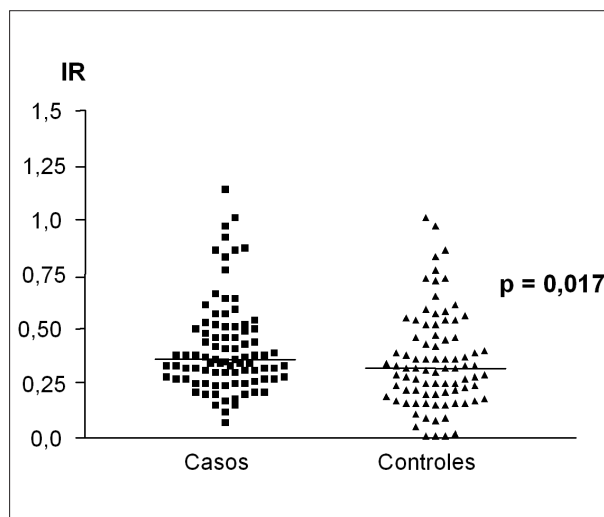


Fig. 2 - Distribución de los títulos séricos de IgG antiLDL-ox expresados en IR, en casos y controles. IR - índice de reactividad.

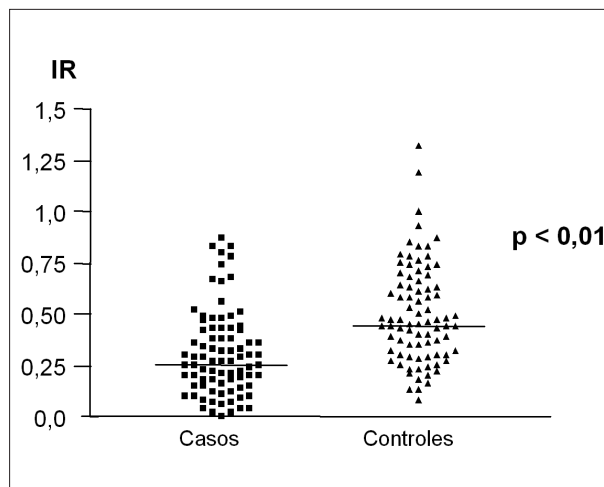


Fig. 3 - Distribución de los títulos séricos de IgG antiptepD expresados en IR, en casos y controles. IR - índice de reactividad.

Tabla 3 - Significancia de variables incluidas en el modelo de regresión lineal múltiple para análisis de relación entre antiLDL-ox, antiptepD, enfermedad arterial coronaria aguda y crónica

Modelo	AntiLDL-ox p	AntipeptD p
Grupo (SCA versus EAC crónica)	0,032	0,001
Hipertensión arterial	0,931	0,216
Dislipidemia*	0,282	0,520
Diabetes	0,079	0,218
Ex-fumante	0,255	0,517
Obesidad	0,942	0,295
Historia Familiar de DAC	0,491	0,906
Colesterolemia**	0,889	0,656

Variables dependientes: antiLDL-ox y antiptepD. SCA - síndrome coronario agudo; EAC - enfermedad arterial coronaria. * Historia familiar de dislipidemia. ** Niveles de colesterol total aumentado.

otros (mayores sensibilidad y especificidad) para el diagnóstico de SCA a partir de la determinación de los títulos de antiLDL-ox en individuos con EAC, siendo el área bajo la curva igual a 0,603 (IC 95% = 0,520 - 0,686).

Discusión

Los conocimientos contemporáneos cuestionan y sugieren nuevos paradigmas sobre la fisiopatología y la historia natural de la aterosclerosis y sus complicaciones clínicas. Considerando las evidencias de estudios de biología celular y molecular y de investigaciones clínicas y experimentales, la aterosclerosis entendida como un proceso resultante del depósito crónico, pasivo y focal de lípidos en la pared arterial, dio lugar a la noción de una respuesta inflamatoria, inmunomediada y sistémica^{3,6,14}.

Al concepto actual de placa vulnerable, se asocia la caracterización del paciente vulnerable, con alta probabilidad de presentar un evento cardiovascular futuro, y cuya identificación es uno de los principales desafíos clínicos¹⁵.

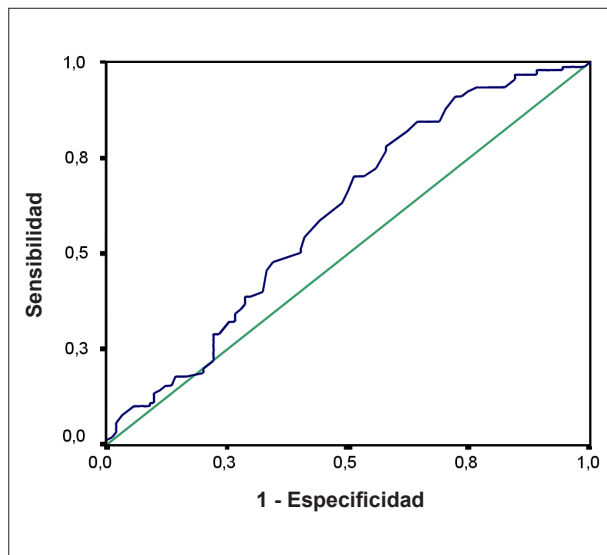


Fig. 4 - Curva ROC (receiver operating characteristic) para análisis de sensibilidad y de especificidad de los valores de corte de antiLDL-ox y el diagnóstico de SCA.

Un tercio de los casos de muerte súbita y de IAM ocurre en individuos previamente asintomáticos, que tienen enfermedad silenciosa y/o factores de riesgo asociados. Estudios epidemiológicos, de observación y de intervención evidenciaron la contribución de factores como HA, tabaco, DM y dislipidemias para el riesgo de enfermedad vascular, especialmente para la EAC. Con todo, 20% de los individuos con EAC no presentan ninguno de los factores de riesgo clásicos¹⁶. Además de eso, cerca de la mitad de los casos de IAM ocurre en personas con niveles de colesterol plasmático dentro de los límites considerados normales¹⁷.

En el estudio de la historia natural de la aterosclerosis y de sus determinantes, muchos marcadores inflamatorios fueron identificados y, en muestras poblacionales seleccionadas, varias de estas sustancias se muestra capaces de ejercer un papel modulador en el riesgo de la enfermedad y de sus complicaciones. Entre ellas, se citan la PCR-us, CD40 vinculante, V-CAM-1, MCP-1, IL-6 y IL-7¹⁸.

Recientemente, un número creciente de evidencias sugiere que la activación local y sistémica del sistema inmunológico pueda estar relacionada con el proceso de inestabilidad de la placa aterosclerótica y de sus manifestaciones clínicas. Aunque haya una elevación crónica de inmunoglobulinas circulantes en pacientes con EAC crónica estable, un incremento transitorio de activación de las células T ha sido descrito por varios autores en pacientes con SCA, llevándolos a creer que eso pueda ser uno de los determinantes en la fisiopatología de las complicaciones agudas¹⁹.

Ammirati et al¹⁹ observaron que pacientes con SCA tenían un número restringido de segmentos génicos, en la cadena β de los receptores de células T (RCT) activadas, en relación a controles con EAC crónica.

En el grupo control, los RCT eran altamente polimórficos. Además de eso, solamente linfocitos T de pacientes con SCA

proliferaban en respuesta a proteínas autólogas, presentes en especímenes de las lesiones culpadas por el evento agudo y/o en respuesta a la LDL-ox. La proliferación linfocitaria en respuesta a la LDL-ox era más intensa en los pacientes con SCA que presentaron mayor morbilidad que en aquellos con evolución clínica favorable.

Los autores sugieren que, en la fase aguda de inestabilidad de la lesión, la respuesta inmunológica policlonal, característica de la EAC crónica, da lugar a la activación mediada por un número restringido de epítomos inmunogénicos presentes en la placa, y diferentes de aquellos relacionados a la activación linfocitaria observada en la fase crónica de la enfermedad. También llama la atención, el hecho de que 68,0% de los segmentos génicos monotípicos u oligotípicos, encontrados en la fase aguda, ya no hayan sido detectados tres meses después del evento coronario, reforzando la idea de que una población antígeno-específica de células T había sido transitoriamente activada en ese período.

Utilizando anticuerpos monoclonales contra epítomos de la LDL-ox oriundos de ratones genéticamente modificados, varios autores observaron que los títulos de LDL-ox eran significativamente más elevados en pacientes con SCA que en portadores de EAC crónica^{7,20}.

Tsimikas et al²¹ encontraron una elevación de 60,0% en los títulos de autoanticuerpos contra una serie de epítomos generados en modelos de oxidación de la LDL, en pacientes durante la fase aguda y en hasta un mes después del IAM. Se admite que, en la fase aguda del evento coronario, el sustrato antigénico se origina de la liberación directa de la lipoproteína modificada, sea por la ruptura o aumento de permeabilidad de la placa, o sea por ruptura de las membranas celulares decurrente de lesión isquémica aguda o después de reperfusión²².

La LDL-ox desempeña un papel crucial en el desarrollo de la aterosclerosis y datos experimentales sostienen que está asociada a múltiples factores de riesgo cardiometabólicos²³. Esos autores reportaron que altas concentraciones de LDL-ox fueron asociadas con el aumento de la incidencia de síndrome metabólico, así como sus componentes, obesidad abdominal, hiperglicemia e hipertrigliceridemia.

La modificación oxidativa de la LDL induce la formación de epítomos inmunogénicos en la molécula de LDL, lo cual lleva a la formación de anticuerpos contra la LDL-ox, que puede ser detectada en el suero²⁴. Estudios han demostrado que la molécula de antiLDL-ox puede bloquear la captación de LDL-ox por los macrófagos en lesiones ateroscleróticas, sugiriendo un posible papel protector para la formación de células espumosas²⁵.

En el presente estudio, se observó que los títulos séricos medios de antiLDL-ox fueron significativamente superiores en pacientes con SCA en relación a individuos con EAC crónica. La diferencia encontrada permaneció significativa e independiente de factores de riesgo cardiovascular establecidos, como HA, tabaco, DM y dislipidemia. Tal diferencia fue específica para los anticuerpos IgG antiLDL-ox, una vez que la concentración de IgG total no difirió significativamente entre casos y controles.

Por otro lado, los títulos séricos medios de anti-peptD fueron significativamente menores en pacientes con SCA que en los individuos con EAC crónica, y la diferencia encontrada fue también independiente de los factores de riesgo cardiovascular y de la concentración de IgG total entre los dos grupos estudiados.

Teniendo en vista el delineamiento de la investigación, y por desconocerse los valores del antiLDL-ox y del anti-peptD, antes del comienzo del cuadro isquémico agudo, no se puede afirmar que tales anticuerpos contribuyan a la inestabilidad de las lesiones coronarias, aunque su elevación represente un epifenómeno resultante de la ruptura de la placa.

Con todo, algunas hipótesis son generadas para interpretar el comportamiento de la respuesta inmunológica observada. Es posible que ocurra, durante la fase aguda del evento coronario, *in vivo*, una mayor y más rápida formación de anticuerpos a partir de clones específicos de linfocitos B, pre-existentes durante la fase crónica de la EAC, en respuesta a una mayor presentación antigénica. La respuesta inmunológica podría tanto desempeñar un papel protector como contribuir al desarrollo del evento isquémico agudo. El papel protector de los antiLDL-ox es evaluado a partir de evidencias experimentales.

Shoenfeld et al²⁶ inmunizaron ratones *knock out* con LDL-ox homóloga y observaron que el procedimiento determinaba aumento de los títulos de antiLDL-ox y reducción en el ritmo de progresión de lesiones ateroscleróticas en esos animales. Los investigadores proponen la participación de los anticuerpos contra la LDL-ox en la depuración de la lipoproteína oxidada, tanto de la circulación como de la placa, a partir de la formación de inmunocomplejos, los cuales serían eliminados por el sistema monocítico-fagocitario, vía receptor Fc.

Es posible que la respuesta monoclonal contra algunos epítopos antigénicos sea más específica²⁷, lo que explicaría la razón por la cual, en el presente estudio, hubo elevación de los títulos de LDL-ox (respuesta policlonal) y reducción de los títulos de anti-peptD (respuesta monoclonal) en los pacientes con SCA en relación a los controles con EAC crónica. Se presume que la reducción de los títulos de anti-peptD, asociada a los eventos isquémicos agudos, traduce la mayor velocidad con que esos antígenos se agrupan.

Por otro lado, no se puede excluir que el aumento en la formación de inmunocomplejos se asocie directamente al proceso de inestabilización de la placa. Virella et al²⁸ sugieren que, en humanos, complejos antiLDL-ox/LDL-ox serían ávidamente digeridos por macrófagos, creando un acúmulo macizo de ésteres de colesterol intracelular, responsable por la inestabilidad de la placa.

Mangueira et al²⁹ evaluaron los títulos de anti-peptD y de antiLDL-ox en 66 pacientes con diagnóstico de artritis reumatoidea, enfermedad inflamatoria crónica, cuya principal causa de mortalidad es la EAC. Los autores observaron buena correlación entre los títulos de los dos anticuerpos, pero solamente los títulos de antiLDL-ox fueron más elevados en los enfermos en relación a los controles.

Trabajos que analizan elevaciones en los títulos de antiLDL-ox, relacionan el aumento de esos títulos con

la ruptura de la placa, y su reducción con la fase de estabilización de las lesiones³⁰.

En estudio reciente, Doo et al³¹ evaluaron el valor pronóstico de los antiLDL-ox como predictores de eventos coronarios en una cohorte de 60 pacientes hospitalizados por AI. Observaron que los individuos cuyos títulos de anticuerpos eran más elevados en la admisión hospitalaria tuvieron un número significativamente mayor de nuevos eventos coronarios, durante el período de observación de 16 meses, concluyendo que la determinación de antiLDL-ox puede ser útil como forma de identificación de grupos de mayor riesgo.

La mayoría de los estudios comparan la respuesta inmunológica a la LDL-ox en pacientes con SCA en relación a controles sin evidencias clínicas de coronariopatía⁷. Con todo, aún individuos asintomáticos pueden presentar formas subclínicas de la enfermedad con compromiso vascular severo y difuso³². Se optó por comparar los títulos de anticuerpos entre individuos con SCA y con EAC crónica, estable y bien definida, una vez que el objetivo es, no el diagnóstico, sino el papel de la respuesta autoinmune en la caracterización de cuadros clínicos distintos de la enfermedad.

Otra diferencia es que algunos trabajos comparan formas agudas y crónicas de EAC por medio de la determinación de los títulos de la LDL-ox circulantes. Tal metodología utiliza anticuerpos monoclonales contra epítopos específicos en la molécula de la LDL-ox, no estando disponible en nuestro medio y presentando dificultades previsibles.

La determinación directa de la LDL-ox en el plasma, o en el suero, se complica por la posibilidad de modificaciones *in vivo* de las muestras y por la variedad de partículas, en diferentes niveles de oxidación, que pueden ser identificadas y cuya significancia, en términos predictivos de enfermedad, es también potencialmente variable. De esa manera, se explica por que la reproductibilidad de la preparación de referencia de la LDL-ox, usada como estándar en el test, genera resultados inconsistentes, aún en una misma población. Los niveles circulantes de LDL-ox son muy bajos debido a la alta concentración de sustancias antioxidantes presentes en la sangre. Además de eso, pueden no correlacionarse con la cantidad de la lipoproteína oxidada presente en la placa aterosclerótica, protegida en la intimidad del subendotelio.

En individuos sanos, se estima que la concentración plasmática media de LDL-ox sea de aproximadamente 0,1 ng/ μ g de la porción proteica de la LDL³³. Así, la localización primaria del análisis de interés podría no ser la circulación.

Las muestras analizadas parecen ser representativas de la población de cardiopatas isquémicos severos, atendidos en servicios de atención terciaria de la enfermedad. Con todo, ciertas diferencias entre los dos grupos deben ser consideradas. La exposición a algunos factores de riesgo para EAC difirió significativamente entre casos y controles. Se sabe que los títulos de antiLDL-ox son más elevados en diabéticos³⁴ y en hipertensos³⁵ que en individuos sin tales diagnósticos. Pacientes con esas patologías fueron más prevalentes en el grupo con SCA. Así, los títulos medios de antiLDL-ox, significativamente más elevados en los casos, podrían estar asociados no al evento agudo, sino a la mayor frecuencia de factores de riesgo en ese grupo. De la misma forma, se sugiere

que los títulos de antiLDL-ox sean más elevados en individuos con síndrome metabólico³⁶.

Aunque, en el presente estudio, el IMC no haya diferido significativamente entre casos y controles, no se puede excluir que diferencias de resistencia a la insulina entre los dos grupos puedan haber contribuido a los resultados encontrados. Fármacos inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas) tienen propiedades inmunomodulatorias y reducen los niveles de antiLDL-ox circulantes.

Una vez que el uso de estatinas no difirió entre los grupos, se presume que la diferencia encontrada en los títulos medios de antiLDL-ox no surge de la utilización de esa terapéutica, aunque no se disponga de datos relativos a las formulaciones, posología y tiempo de utilización de esos fármacos en las muestras estudiadas, tampoco la colesterolemia media difirió entre casos y controles, lo que confirma el resultado de investigaciones previas que no encontraron correlación positiva entre las concentraciones séricas de lipoproteínas y los títulos de antiLDL-ox.

El valor medio de la PCR-us fue, como esperado, más elevado en casos que en controles. La PCR-us es considerada un marcador inflamatorio y sus niveles séricos pueden tener aplicabilidad clínica en la detección y prevención de la enfermedad cardiovascular³⁷. El estudio JUPITER, recientemente concluido, demostró que pacientes con riesgo cardiovascular, pero con niveles normales de LDL (< 130 mg/dl) y con PCR-us elevada (> 2 mg/dl), que hicieron uso de rosuvastatina, comparados contra placebo, tuvieron significativamente menos desenlaces cardiovasculares³⁸.

Los antiLDL-ox serían marcadores de autoinmunidad y estudios que correlacionan valores de PCR-us con títulos de antiLDL-ox, en SCA, muestran que ambos son independientes entre sí. Mientras tanto, cuando son simultáneamente elevados, aumentan el valor predictivo para el diagnóstico del evento coronario agudo³⁹.

Se procuró controlar los diferentes sesgos de confusión por el análisis estadística. El modelo de regresión incluyó variables que difirieron o no significativamente entre los grupos, y evidenció que tanto los títulos de antiLDL-ox como los de anti-peptD se asociaban de forma independiente a los eventos coronarios agudos en la muestra analizada.

El mejor conocimiento de la inflamación y aterotrombosis, así como la evidencia de autoanticuerpos LDL-ox, podrá establecer nuevas estrategias preventivas, entre ellas la *factibilidad* de la vacuna para prevención primaria en individuos con factores de riesgo cardiovascular.

Limitantes

En la muestra estudiada, no se estableció un valor de corte de los títulos de antiLDL-ox, encima del cual se podría discriminar con suficiente sensibilidad y especificidad los casos de SCA. El método inmunoenzimático para dosaje de los antiLDL-ox es de difícil estandarización y ejecución, lo que puede inducir a resultados discrepantes, según se observa en diferentes estudios. La aplicabilidad clínica de su determinación dependerá de futuras investigaciones, así como de evaluación costo-beneficio.

Conclusión

Los resultados mostraron que los títulos de antiLDL-ox fueron significativamente más elevados en los pacientes con SCA comparados a los pacientes con EAC y pueden estar asociados a la inestabilidad de la placa aterosclerótica.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Daniel Francisco Jacob Ketelhuth, por el valioso apoyo logístico en la realización de los tests serológicos.

Potencial conflicto de interés

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de financiamiento

El presente estudio no tuvo fuentes de financiamiento externas.

Vinculación académica

Este artículo es parte de tesis de Doctorado de Ana Maria Brito Medeiros por la Pontificia Universidade Católica de Rio Grande do Sul.

Referencias

1. Itabe H. Oxidative modification of LDL: its pathological role in atherosclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009; 37 (1): 4-11.
2. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis: current concepts. *JAMA*. 1990; 264: 3047-52.
3. Gounopoulos P, Merki E, Hansen LF, Choi SH, Tsimikas S. Antibodies to oxidized low density lipoprotein: epidemiological studies and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Minerva Cardioangiol*. 2007; 55 (6): 821-37.
4. Xavier HT, Abdalla DSP, Martinez TLR, Ramires JAF, Gagliardi ART. Efeitos da lipoproteína LDL-oxidada sobre a proliferação e a motilidade espontânea in vitro de células endoteliais de artérias coronárias humanas. *Arq Bras Cardiol*. 2004; 63: 488-92.
5. Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol*. 2001; 158 (3): 879-91.
6. Chou MY, Hartvigsen K, Hansen LF, Fogelstrand L, Shaw PX, Boullier A, et al. Oxidation-specific epitopes are important targets of innate immunity. *J Intern Med*. 2008; 263 (5): 479-88.
7. Soltesz P, Veres K, Laczik R, Der H, Csipo I, Timar O, et al. Evaluation of antibodies to oxidized low-density lipoprotein and assessment of C-reactive protein in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease. *Thromb Haemost*. 2007; 98 (2): 413-9.
8. Rossi GP, Cesari M, De Toni R, Zanchetta M, Maiolino G, Pedon L, et al.

- Antibodies to oxidized low-density lipoproteins and angiographically assessed coronary artery disease in White patients. *Circulation*. 2003; 108: 2467-72.
9. Braunwald E. Unstable angina: a classification. *Circulation*. 1989; 80: 410-4.
 10. Campeau L. Grading of angina pectoris [letter]. *Circulation*. 1976; 54: 522-3.
 11. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193 (1): 265-75.
 12. Harada LM, Carvalho MD, Passarelli M, Quintão EC. Lipoprotein desialylation simultaneously enhances the cell cholesterol uptake and impairs the reverse cholesterol transport system: in vitro evidences utilizing neuraminidase-treated lipoproteins and mouse peritoneal macrophages. *Atherosclerosis*. 1998; 139: 65-75.
 13. Gidlund MA, Damasceno NR, Lindoso JA, Abdalla DS, Goto H. Monoclonal antibodies against low density lipoprotein with various degrees of oxidative modifications. *Braz J Med Biol Res*. 1996; 29: 1625-8.
 14. Magalhães CK, Siqueira Filho AC, Amino JGOC, Nolasco M. Correlação entre marcadores bioquímicos e a cineangiocoronariografia em portadores de síndromes isquêmicas agudas sem supradesnívelamento de segmento ST. *Arq Bras Cardiol*. 2006; 86: 223-31.
 15. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patients: a call for new definitions and risk assessment strategies: part I. *Circulation*. 2003; 108: 1664-72.
 16. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003; 290: 898-904.
 17. Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis*. 1996; 124: S1-S9.
 18. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002; 347: 1557-65.
 19. Ammirati E, Vermi AC, Cianflone D, Banfi M, Foglieni C, Godino C, et al. Expansion of T-Cell receptor zeta dim effector T cells in acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28 (12): 2305-11.
 20. Ehara S, Ueda M, Nakuro T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001; 103: 1955-60.
 21. Tsimikas S, Beyer RW, Patel R, Miller E, Juliano J, Witztum JL. Prospective evaluation of the role of oxidized LDL in acute coronary syndromes treated with percutaneous intervention. *Circulation*. 2000; 102: II-13.
 22. Tsimikas S, Witztum JL. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation*. 2001; 103: 1930-2.
 23. Holvoet P, Lee DH, Steffes M, Gross M, Jacobs DR Jr. Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome. *JAMA*. 2008; 299 (19): 2287-93.
 24. Palinski W, Witztum JL. Immune responses to oxidative neoepitopes on LDL and phospholipids modulate the development of atherosclerosis. *J Intern Med*. 2000; 247: 371-80.
 25. Shaw PX, Horkko S, Tsimikas S, Chang M, Palinski W, Silverman G, et al. Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesion in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21: 1333-9.
 26. Shoenfeld Y, Harats D, George J. Heat shock protein 60/65, beta 2-glycoprotein I and oxidized LDL as players in murine atherosclerosis. *J Autoimmun*. 2000; 15: 199-202.
 27. Napoli C, Glass CK, Witztum JL, Deutsch R, D'Armiento FP, Palinski W. Influence of maternal hypercholesterolemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *Lancet*. 1999; 354: 1234-41.
 28. Virella G, Lopes-Virella MF. Lipoprotein autoantibodies: measurement and significance. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003; 10: 499-505.
 29. Manguera CLP. Autoantibodies against copper-oxidized low density lipoprotein, apolipoprotein-B derived peptides and cardiolipin in rheumatoid arthritis patients: correlation with disease activity and other clinical parameters [tese]. São Paulo (SP): Faculdade de Medicina . Universidade de São Paulo; 2003.
 30. Tornvall P, Waeg G, Nilsson J, Hamsten A, Regnström J. Autoantibodies against low-density lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2003; 167: 347-53.
 31. Doo YC, Han SJ, Lee JH, Cho GY, Hong KS, Han KR, et al. Associations among oxidized low-density lipoprotein antibody, C-reactive protein, interleukin-6, and circulating cell adhesion molecules in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 2004; 93: 554-8.
 32. Libby P. Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis and stabilization. *Am J Cardiol*. 2000; 86: 3-8.
 33. Itabe H, Yamamoto H, Imanaka T, Shimamura k, Uchiyama H, Kimura J, et al. Sensitive detection of oxidatively modified low density lipoprotein using a monoclonal antibody. *J Lipid Res*. 1996; 37: 45-53.
 34. Dotevall A, Hulthe J, Rosengren A, Wiklund O, Wilhelmsen L. Autoantibodies against low-density lipoprotein and C-reactive protein are associated with diabetes and myocardial infarction in women. *Clin Sci*. 2001; 101: 523-31.
 35. Awadallah SM, Hamad M, Jbarah I, Salem NM, Mubarak MS. Autoantibodies against oxidized LDL correlate with serum concentrations of ceruloplasmin in patients with cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2006; 365 (1-2): 330-6.
 36. Fagerberg B, Bokemark L, Hulthe J. The metabolic syndrome, smoking, and antibodies to oxidized LDL in 58-year-old clinically healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001; 4: 217-20.
 37. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003; 107: 363-9.
 38. Ridker PM, Danielson E, Fonseca F, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, et al. JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*. 2008; 359 (21): 2195-207.
 39. Holvoet P, Collen D, Van de Wert F. Malondialdehyde-modified LDL as a marker of acute coronary syndromes. *JAMA*. 1999; 281: 1718-21.