

Anticorpos contra as proteínas de choque térmico de 60/65kDa e risco de infarto agudo do miocárdio

Primeira submissão em 13/10/03
Última submissão em 28/05/04
Aceito para publicação em 07/06/04
Publicado em 20/12/04

Ao Editor,

A resposta imunológica contra proteínas de choque térmico (*heat-shock proteins* – hsp) observada no processo aterosclerótico é intrigante. Coelhos normocolesterolêmicos imunizados com a hsp de 65 quilodáltons (kDa) desenvolveram aterosclerose. A hsp de 65kDa foi encontrada abundantemente na placa aterosclerótica⁽⁵⁾.

Os estudos clínicos acerca de anticorpos anti-hsp e doença aterosclerótica são ainda esparsos. Recentemente, reportamos que anticorpos IgG contra hsp humana de 60kDa e micobacteriana de 65kDa consistem em fatores de risco independentes para acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico em fase aguda⁽⁴⁾.

A associação acima mencionada de anticorpos anti-hsp 60/65kDa com AVC isquêmico nos levou a estender os dados em direção a outros grupos de pacientes ateroscleróticos. Dessa forma, decidimos determinar se níveis elevados de anti-hsp 60/65kDa estão associados a risco de infarto agudo do miocárdio (IAM).

Oitenta e dois pacientes com IAM e 82 controles foram incluídos neste estudo de caso-controle de casos incidentes. Pacientes com IAM foram estudados na primeira semana do evento trombótico. Casos e controles foram avaliados quanto a sexo, idade, raça, hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo, cardiopatia prévia, história de diabetes *mellitus* (DM) e hipercolesterolemia. Anticorpos IgG contra hsp humana de 60kDa e contra hsp micobacteriana de 65kDa foram detectados através de imunoensaio enzimático (INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, USA). Amostras com densidade óptica de no mínimo 0,5 foram consideradas positivas⁽⁴⁾. Razões de chances (*odds ratios* – OR) foram calculadas através de regressão logística.

A média de idade para casos e controles foi de, respectivamente, 57,7 e 51,1 anos ($p = 0,003$). Uma preponderância do sexo masculino foi observada nos casos ($p = 0,005$). A raça branca predominou em ambos os grupos ($p = 0,798$). Entre os fatores de risco conhecidos para IAM, história de DM (OR 5,3; IC95% 1,9 a 14,9; $p = 0,001$) e cardiopatia prévia (OR 4,7;

IC95% 2 a 10,7; $p < 0,001$) foram as associações mais consistentes. A frequência de IgG anti-hsp 60kDa foi de 4,9% nos casos e nula em controles (p não-ajustado 0,12). A frequência de IgG anti-hsp 65kDa foi de 18,3% nos casos e de 11% em controles ($p = 0,239$; OR 1,96; IC95% 0,6 a 6).

Como um todo, nossos resultados não indicaram frequência aumentada de IgG anti-hsp 60/65kDa em pacientes com IAM comparativamente a controles. A análise multivariada confirmou que a ocorrência desses anticorpos não se associou a risco de IAM.

Há poucos relatos a respeito de doença coronária e anticorpos contra ambas hsp de 60/65kDa. Prohaszka *et al.* determinaram a presença de anti-hsp 60/65kDa em pacientes com doença coronária severa submetidos a revascularização, em pacientes com angiografia normal e em controles. Anticorpos IgG anti-hsp 60kDa mas não contra hsp 65kDa se associaram com doença coronária severa, independentemente de outros fatores de risco⁽³⁾. Além de nosso estudo, esse é o único a avaliar a presença de IgG contra ambas as hsp 60/65kDa em pacientes com coronariopatia aterosclerótica.

Zhu *et al.* também descreveram uma associação independente de anticorpos anti-hsp humana 60kDa com aterosclerose coronária. Em sua casuística de 391 pacientes, um teste positivo se correlacionou com severidade da doença⁽⁴⁾. Nossos achados acerca do binômio anti-hsp 60kDa e IAM são discordantes desses dois estudos^(3, 6). De interesse, anticorpos contra hsp 60kDa de *Chlamydia pneumoniae* foram intensamente associados a síndromes coronárias agudas em estudo recente⁽¹⁾.

Birnie *et al.*⁽²⁾ avaliaram a presença de anti-hsp 65kDa em 11 pacientes com IAM. Houve tendência de queda dos títulos do anticorpo no quinto dia do evento. Os autores especulam que o fenômeno resulte de consumo local de anticorpos dada a forte antígenoização da hsp 65kDa no pós-IAM. Essa hipótese poderia se aplicar à baixa frequência de anticorpos anti-hsp 60/65kDa obtida em nosso presente estudo.

Em suma, em contraste com os nossos achados em AVC isquêmico onde anticorpos anti-hsp 60/65kDa se comportaram como fatores de risco para o desfecho, não confirmamos uma associação entre esses anticorpos e risco de IAM. Os dados a respeito de frequência e papel patogênico dos anticorpos anti-hsp 60/65kDa em pacientes com doença coronária são intrigantes, mas ainda incertos. O perfil desses anticorpos parece diferir em pacientes com AVC isquêmico e IAM. Embora fenômenos de auto-imunidade possam ser de importância no processo aterosclerótico, os marcadores sorológicos para doença coronária, incluindo anticorpos anti-hsp, ainda estão sob estudo.

Andrei Lottermann, MD;
Aline Ranzolin, MD;
Gary L. Norman, PhD;
Luiz Carlos Bodanese, PhD;
Carlos Alberto Von Mühlen, PhD;
Henrique Luiz Staub, PhD

Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil; INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, United States of America.

Referências

1. BIASUCCI, L. M. et al. Antibody response to Chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation*, v. 107, p. 3015-17, 2003.
2. BIRNIE, D. H. et al. Anti-heat shock protein 65 titres in acute myocardial infarction. *Lancet*, v. 344, p. 1443, 1994.
3. PROHASZKA, Z. et al. Comparative study on antibodies to human and bacterial 60kDa heat shock proteins in a large cohort of patients with coronary heart disease and healthy subjects. *Eur J Clin Invest*, v. 31, p. 285-92, 2001.
4. STAUB, H. L. et al. Antibodies to the atherosclerotic plaque components beta 2-glycoprotein I and heat shock-proteins as risk factors for acute cerebral ischemia. *Arch Neuropsychiatr*, v. 61, p. 757-63, 2003.
5. XU, Q. et al. Induction of arteriosclerosis in normocholesterolemic rabbits by immunization with heat shock protein 65. *Arterioscl Thromb*, v. 12, p. 789-99, 1992.
6. ZHU, J. et al. Antibodies to human heat shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. *Circulation*, v. 103, p. 1071-5, 2001.

Prezado correspondente,

Em face da carta recentemente lhe enviada pelos autores Henrique Luiz Staub *et al.*, pertinente ao tema *Anticorpos contra as proteínas de choque térmico de 60/65kDa e risco de infarto agudo do miocárdio*, temos a ponderar o seguinte:

As proteínas de choque térmico (*heat shock protein* – hsp), no passado chamadas de proteínas de estresse, pertencem a um grupo de pelo menos duas dúzias de proteínas, que nos servem de guardiãs ou protetoras (*chaperons*) moleculares dos danos celulares provocados pelas respostas aos estímulos injuriantes, ajudando nossas células a conviver nesses ambientes estressantes.

A arteriosclerose é uma doença multifatorial, com bases imunológicas, caracterizada por inflamação e injúria endotelial⁽⁹⁾ provenientes de infecções, forças hemodinâmicas, oxidação do LDL⁽¹⁰⁾, fatores nutricionais, toxinas e insultos químicos, todos capazes de ativar reações ao estresse e induzir a expressão de hsp.

Anticorpos contra hsp60 estão aumentados no soro de pacientes com arteriosclerose e, principalmente, estão associados com a gravidade dessa doença^(7, 11).

Nesse contexto, o autor que lhes envia uma carta cita sua linha de pesquisa, publicada recentemente⁽¹⁾ com 93 casos-con-

trole de casos incidentes, envolvendo pacientes neurológicos portadores de isquemia cerebral aguda. Sua metodologia de seleção foi cuidadosa, assim como a realização de um completo perfil de anticorpos anti-beta-2-glicoproteína e anticorpos IgG anti-hsp60/65. No entanto, os exames capazes de identificar a presença de aterotrombose carotídea, como por exemplo a US de carótidas, *não foram realizados*, e dessa forma os autores não puderam identificar com base em fortes evidências uma causa freqüente de acidente vascular cerebral, principalmente em população idosa. Nesse estudo citado em sua carta e publicado⁽¹⁾ nos *Arquivos de Neuropsiquiatria*, a média de idade dos pacientes arrolados com a doença neurológica foi de $62 \pm 12,3$ contra $47,5 \pm 18,8$ dos controles, e essa diferença alcançou significância estatística com $p < 0,001$.

Num estudo húngaro, da Universidade de Semmelweis, Kramer *et al.*⁽²⁾ descreveram que a única associação encontrada com os *aumentos dos títulos de anti-hsp65* nas doenças cerebrovasculares, em última instância, tinha sido a presença da grave doença arteriosclerótica nas carótidas, *identificada através de ultra-sonografia*. Talvez por essa razão os autores brasileiros⁽¹⁾ tenham encontrado resultados diferentes do trabalho húngaro.

Diversos trabalhos apontam os níveis elevados de anticorpos IgG contra hsp humana de 60kDa e micobacteriana de 65kDa com aumento da idade e doença arteriosclerótica na carótida^(3-8, 11), diferente do que menciona a *Carta ao Editor*, recém-enviada, em seu segundo parágrafo. Outrossim, as publicações pertinentes a esse tópico vêm crescendo na literatura médica.

Na mesma linha de pensamento, Lottermann *et al.*, baseados no trabalho recém-publicado nos *Arquivos de Neuropsiquiatria*⁽¹⁾, decidiram determinar se os níveis elevados de anti-hsp60/65 estariam associados ao risco de infarto agudo do miocárdio (IAM). Dessa forma, envolveu 82 pacientes com IAM e 82 controles num *novo estudo de caso-controle* de casos incidentes.

Entretanto, no mesmo perfil de análise do estudo em AVC, os autores usaram argumentos que necessitam ser mais esclarecidos para o leitor, pelos seguintes aspectos:

1. Foram coletadas amostras de soro *na primeira semana*, após ter ocorrido o IAM, para se avaliarem os anticorpos IgG contra hsp de 65kDa e micobacteriana de 65kDa. Isso poderia ser um fator de confusão? Esses pacientes poderiam estar com o processo inflamatório defervescendo? Foram os *sobreviventes* da primeira onda de IAM? Assim sendo, selecionados pela evolução natural da doença? O IAM foi estratificado pela gravidade?
2. Haveria que se determinar, de modo claro, a farmacocinética temporal desses anticorpos, na população de IAM, estratificada por idade, gravidade das lesões, grau de resposta inflamatória produzida, gravidade clínica, presença de doença arteriosclerótica (número de vasos) disfunção ventricular (gradação), e co-morbidades associadas entre outros fatores, antes de se concluir sobre a ausência desses anticorpos humanos anti-hsp no contexto dessa patologia.
3. O estudo de Prohaszka⁽¹²⁾ citado na carta apresenta-se sob a forma de um *estudo coorte*, ou seja, é mais sólido baseado na hierarquia da EBM diante de estudo de caso-controle. Outrossim, ele analisa os níveis de anticorpos humanos contra hsp65, hsp60 e *E. coli* derivada GroEL em três grandes grupos: G1 com 357 pacientes com doença coronária vascular grave submetidos a cirurgia de revascularização; G2 contemplando 62 pacientes sem doença coronária observados através de coronariografia; e por fim G3 com 321 doadores de sangue saudáveis. Ressalta também que os anticorpos anti-*Helicobacter pylori* (ELISA) foram negativos. Seus resultados informam que os níveis de auto-anticorpos anti-hsp60 foram significativamente superiores em G1 comparados a G2 ($p = 0,007$) ou G3 ($p < 0,0001$). Em contraste, os anticorpos anti-hsp65 e anti-GroEL em G1 e G3 não alcançaram diferença estatística, embora estivessem maiores em G1. Esse estudo então levanta a questão da associação entre *gravidade de doença coronária e níveis de anticorpos humanos* contra hsp60. Dessa forma, não vejo como o estudo dos autores brasileiros possa ser comparável ao estudo húngaro, seja em metodologia, desenho e hipóteses formuladas.
4. Anticorpos contra hsp 60kDa de *Chlamydia pneumoniae*, referida também nessa carta, deveriam ser mais discutidos, para que os leitores possam distinguir as diferenças entre anticorpos contra Cp-hsp60 e os níveis de anticorpos IgG anti-clamídia, bem como as metodologias de sua análise e realização, diferenças entre as técnicas de identificação de anti-hsp humano e anti-hsp bacterianos e em que contexto elas foram empregadas, citando a literatura de modo mais esclarecedor. Por exemplo, numa metanálise recente, Danesh⁽¹³⁾ *et al.* estudaram de 24 cidades britânicas, 15 estudos prospectivos, *ajustados até por classe social na adolescência*, entre outros fatores de risco, já que se trata de análise de anticorpos que poderiam estar mais presentes nas populações de classes econômico-sociais menos favorecidas pela chance de desenvolverem mais infecções. Esse belíssimo estudo de revisão sistemática identificou 15 estudos prospectivos com títulos elevados de IgG-C. *pneumoniae* e doença coronária até maio de 2000. Foram incluídos mais de 3 mil casos, todos corretamente ajustados para tabagismo entre outros fatores de risco clássicos. Essa metanálise exclui de maneira *consistente* qualquer forte associação entre os títulos de anticorpos contra *C. pneumoniae* e doença coronária.
5. O estudo de Luigi Biasucci⁽¹⁴⁾, citado também nessa carta como primeira referência, confunde o leitor diante das conclusões lá arroladas. Biasucci reporta numa *Brief Rapid Communication* da revista *Circulation* as diferenças entre resposta antigênica contra *chlamydial heat shock protein 60* (Cp-hsp60), *anticorpos humanos anti-hsp60* (hu-hsp60) e *títulos elevados de IgG anti-Chlamydia pneumoniae*. Nesse estudo, os autores⁽¹⁵⁾ desenvolveram uma elegante discussão sobre se o nível elevado de anti-Cp-hsp60 na doença coronária aguda poderia ter causado ou estar aumentado por uma resposta imune do hospedeiro relacionada a um mimetismo entre Cp e hu-hsp60. Além disso, em que pesem os aumentos

dessas moléculas no sangue elevarem o processo inflamatório da síndrome coronária aguda, desempenhando um papel patogênico adicional à síndrome coronária aguda, *recomendam que se aguardem estudos mais consistentes para que possamos relacioná-los como marcadores diagnósticos de instabilidade da doença.*

6. Em conclusão, os autores da *Carta ao Editor* estabeleceram uma analogia desaconselhável entre seu primeiro trabalho⁽¹⁾ sobre risco de acidente vascular cerebral e o segundo, ainda não-publicado, de risco de infarto agudo do miocárdio. Seria mais prudente esclarecer as controvérsias que cerceiam as diferentes hsp em diferentes populações de doenças que coexistem com arteriosclerose e insultos celulares. Por último, análise de risco de doenças, em estudos observacionais, com número pequeno de pacientes, em que pesem a elevada acurácia e a confiabilidade de alguns exames laboratoriais (não é o caso das hsp), deveria ser feita com cautela. O interessante é que os autores de Porto Alegre, em seu último parágrafo, estão corretos em dizer que “embora fenômenos de auto-imunidade possam ser de importância no processo aterosclerótico, os marcadores sorológicos para doença coronária, incluindo-se anticorpos anti-hsp, ainda estão sob estudo”.

Rubens C. Costa Filho, MD, FCCP, MBA

Chefe da Terapia Intensiva do Hospital Pró-Cardíaco; coordenador do Núcleo Gestor do Conhecimento do CTI (NUGESCO/CTI).

Referências

1. STAUB, H. L. et al. Anticorpos contra os componentes da placa aterosclerótica beta 2-glicoproteína I e proteínas de choque térmico como fatores de risco para isquemia cerebral aguda. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 61, n. 3B, p. 757-63, 2003.
2. KRAMER, J. et al. Frequencies of certain complement protein alleles and serum levels of anti-heat shock protein antibodies in cerebrovascular diseases. *Stroke*, v. 31, p. 2648-52, 2000.
3. XU, Q. et al. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis: clinical significance determined in a follow-up study. *Circulation*, v. 100, p. 1169-74, 1999.
4. XU, Q. et al. Serum soluble heat shock protein 60 is elevated in subjects with atherosclerosis in a general population. *Circulation*, v. 102, p. 14-20, 2000.
5. XU, Q. et al. Association of serum antibodies to heat shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet*, v. 341, p. 255-9, 1993.
6. POCKLEY, A. G. et al. Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension*, v. 36, p. 303-7, 2000.
7. ZHU, J. et al. Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. *Circulation*, v. 103, p. 1071-5, 2001.
8. SCHETT, G. et al. Autoantibodies against heat shock protein 60 mediate endothelial cytotoxicity. *J Clin Invest*, v. 96, p. 2569-77, 1995.
9. SEITZ, C. S. et al. Coexpression of heat-shock protein 60 and intercellular-adhesion molecule-1 is related to increased adhesion of monocytes and T cells to aortic endothelium of rats in response to endotoxin. *Lab Invest*, v. 74, p. 241-52, 1996.
10. FROSTEGARD, J. et al. Induction of heat shock protein in monocytic cells by oxidized low-density lipoprotein. *Atherosclerosis*, v. 121, p. 93-103, 1996.
11. PERSCHINKA, H. et al. Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, v. 23, p. 1060-5, 2003.
12. PROHASZKA, Z. et al. Comparative study on antibodies to human and bacterial 60kDa heat shock proteins in a large cohort of patients with coronary heart disease and healthy subjects. *Eur J Clin Invest*, v. 31, p. 285-92, 2001.
13. DANESH, J.; WARD, M. Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *BMJ*, v. 321, p. 208-13, 2000.
14. BIASUCCI, L. M. et al. Antibody response to chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation*, v. 107, p. 3015-7, 2003.