

Associação Positiva entre Autoanticorpos contra LDL Oxidada e HDL-C: Um Novo Mecanismo para Cardioproteção de HDL?

Positive Association between Autoantibodies Against Oxidized LDL and HDL-C: A Novel Mechanism for HDL Cardioprotection?

Carla Evelyn Coimbra Nunez,¹ Joaquim Barreto Oliveira,² Sílvia de Barros-Mazon,¹ Vanessa H. S. Zago,³ Denise Beheregaray Kaplan,¹ Ruy T. Nakamura,⁴ Magnus Ake Gidlund,⁵ Erica I. L. Gomes,⁶ Patricia Miralda Cazita,⁵ Edna Nakandakare,⁵ Helison R. Carmo,⁶ Andrei C. Sposito,² Eliana Cotta de Faria¹

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – Departamento de Patologia,¹ Campinas, SP – Brasil

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – Laboratório de Aterosclerose e Biologia Vascular (Atherolab),² Campinas, SP – Brasil

Pontifícia Universidade Católica (PUC-Campinas),³ Campinas, SP – Brasil

Diagnostic Image Laboratory,⁴ Campinas, SP – Brasil

Universidade de São Paulo (USP),⁵ São Paulo, SP – Brasil

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),⁶ Campinas, SP – Brasil

Resumo

Fundamento: No microambiente da placa aterosclerótica, os fosfolípidios oxidados expressos na superfície de lipoproteína de baixa densidade oxidada (oxLDL) se ligam a receptores *scavenger* em macrófagos provocando a formação de células espumosas e a progressão da placa. Autoanticorpos contra oxLDL (oxLDL-Ab) interagem com epítomos oxidativos levando à formação de imunocomplexos que são incapazes de interagir com receptores de macrófagos, assim suprimindo a aterogênese. A liberação de oxLDL-Ab pelas células B envolve a resposta da interleucina 5 e Th2, que por sua vez são potencializadas pela HDL. Assim, levantamos a hipótese de que indivíduos com níveis mais altos de HDL-C podem apresentar níveis elevados de oxLDL-Ab.

Objetivo: Avaliar a relação entre os níveis de HDL-C e oxLDL-Ab.

Métodos: Indivíduos assintomáticos (n = 193) foram agrupados de acordo com sua concentração de HDL-C para uma das três categorias seguintes: baixa (< 68 mg/dL), intermediária (de 68 a 80 mg/dL) ou alta (> 80 mg/dL). Os valores p < 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados: Nossa análise incluiu 193 indivíduos (média etária: 47 anos; masculino: 26,3%). Em comparação com os indivíduos no menor tercil de HDL-C, os mais elevados foram mais velhos (36 versus 53 anos; p = 0,001) e, menos frequentemente, masculinos (42,6% versus 20,9%; p = 0,001). Os valores médios de oxLDL-Ab aumentaram à medida que o grupo HDL-C aumentou (0,31, 0,33 e 0,43 unidades, respectivamente; p = 0,001 para tendência). A regressão linear simples encontrou uma relação significativa e positiva entre a variável independente, HDL-C, e a variável dependente, oxLDL-Ab (R = 0,293; p = 0,009). Essa relação manteve-se significativa (R = 0,30; p = 0,044), após ajuste por covariáveis. Os níveis de apolipoproteína AI também estiveram relacionados a oxLDL-Ab nos modelos de regressão linear simples e ajustada.

Conclusões: HDL-C e oxLDL-Ab estão independentemente relacionados.

Palavras-chave: HDL-Colesterol; Lipoproteínas IDL; Aterosclerose.

Abstract

Background: In the atherosclerotic plaque microenvironment, oxidized phospholipids expressed in the oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) surface bind to scavenger receptors of macrophages eliciting foam cell formation and plaque progression. Auto-antibodies against oxLDL (oxLDL-Ab) interact with oxidative epitopes leading to the formation of immune complexes that are unable to interact with macrophage receptors, thus abrogating atherogenesis. Release of oxLDL-Ab by B cells involves interleukin 5 and Th2 response, which in turn are potentiated by HDL. Thereby, we hypothesized that individuals with higher levels of HDL-C may plausibly display elevated titers of oxLDL-Ab.

Objective: To evaluate the relationship between HDL-C and oxLDL-Ab levels.

Correspondência: Joaquim Barreto Oliveira •

UNICAMP – Laboratório de Aterosclerose e Biologia Vascular (Atherolab) – Rua Tessália Vieira de Camargo, 126. CEP 13083-872, Campinas, SP – Brasil

E-mail: joaquimbarretoantunes@gmail.com

Artigo recebido em 17/09/2021, revisado em 14/03/2022, aceito em 06/04/2022

DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20210796>

Methods: Asymptomatic individuals ($n = 193$) were grouped according to their HDL-C concentration to one of three categories: low (< 68 mg/dL), intermediate (68 to 80 mg/dL) or high (> 80 mg/dL). P values < 0.05 were considered statistically significant.

Results: Our analysis included 193 individuals (mean age: 47 years; male: 26.3%). Compared to individuals in the lowest HDL-C tertile, those in the highest tertile were older (36 versus 53 years; $p = 0.001$) and less frequently male (42.6% versus 20.9%; $p = 0.001$). Mean values of oxLDL-Ab increased as the HDL-C group escalated (0.31, 0.33 and 0.43 units, respectively; $p = 0.001$ for trend). Simple linear regression found a significant, positive relationship between the independent variable, HDL-C, and the dependent variable, oxLDL-Ab ($R = 0.293$; $p = 0.009$). This relation remained significant ($R = 0.30$; $p = 0.044$), after adjustment by covariates. Apolipoprotein AI levels were also related to oxLDL-Ab in both simple and adjusted linear regression models.

Conclusion: HDL-C and oxLDL-Ab are independently related.

Keywords: Cholesterol, HDL; Lipoproteins, IDL; Atherosclerosis.

Full texts in English - <https://abccardiol.org/en/>

Introdução

A acumulação de lipoproteínas contendo apolipoproteína B (ApoB), principalmente lipoproteína de baixa densidade (LDL), na íntima arterial tem sido pesquisada como o passo inicial da aterogênese.¹ Nesse microambiente arterial, a modificação oxidativa gera vários novos epítopos na LDL, que são reconhecidas pelas células imunes e levam à ativação da resposta inflamatória Th1 e Th2, provocando a liberação de autoanticorpos contra LDL oxidada (oxLDL-Ab).^{2,3}

O papel protetor de oxLDL-Ab na aterogênese é apoiado por um crescente corpo de evidências. De fato, o tratamento com oxLDL-Ab diminuiu a progressão da placa aterosclerótica e mitigou significativamente a captação da lipoproteína de baixa densidade oxidada (oxLDL) por macrófagos em camundongos com deficiência de apolipoproteína E (ApoE).⁴⁻⁷ Além disso, estudos observacionais descobriram que os níveis de oxLDL-Ab estão inversamente relacionados à espessura da camada íntima da carótida e aos níveis de oxLDL em indivíduos saudáveis.⁸ Da mesma maneira, uma grande revisão sistemática concluiu que os níveis de oxLDL-Ab estão inversamente relacionados à gravidade da doença arterial coronariana e à incidência de eventos cardiovasculares.⁹

As propriedades benéficas de oxLDL-Ab desencadearam uma intensa busca por moduladores de sua liberação. Neste assunto, Chou et al.¹⁰ verificaram que a estimulação de células B com interleucina 5 (IL5) induziu a geração de oxLDL-Ab. É importante ressaltar que a IL5 está relacionada à resposta Th2, que por sua vez é comprovadamente inibida por oxLDL, mas incrementada pela lipoproteína de alta densidade (HDL).^{11,12} Considerando isso, projetamos o presente estudo com a hipótese de que a HDL plasmática pode estar independentemente associada aos níveis plasmáticos de oxLDL-Ab. Portanto, nosso estudo avaliou se os níveis de oxLDL-Ab e colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) estão relacionados em indivíduos com uma ampla variedade de concentrações plasmáticas de HDL-C.

Métodos

Desenho da pesquisa

O presente estudo foi realizado como análise transversal de dados de indivíduos saudáveis consecutivamente incluídos em um grande grupo de pacientes assintomáticos atendidos

no Hospital Universitário da Universidade de Campinas, na cidade de Campinas, São Paulo, Brasil. Os pacientes elegíveis tinham 18 anos ou mais, sendo de ambos os sexos. Após a assinatura do termo de consentimento informado, os participantes responderam a um questionário detalhado de elegibilidade.

Os critérios de exclusão foram qualquer doença arterial coronariana prévia ou acidente vascular cerebral; causas secundárias de HDL-C plasmático baixo ou alto; uso regular de tratamentos médicos (especialmente aqueles que interferem no metabolismo lipídico, como estatinas, terapia de reposição hormonal e anticoncepcionais); doenças hepáticas, renais, pulmonares e endócrinas (como diabetes); uso crônico de álcool e tabaco; e mulheres que estavam grávidas ou lactantes devido à possível influência hormonal. Os participantes elegíveis foram submetidos a um exame físico detalhado, medidas de pressão arterial e ultrassonografia carotídea, e suas amostras de sangue periférico foram coletadas para análise bioquímica.

Os participantes foram agrupados de acordo com seus tercís de níveis de HDL-C da seguinte maneira: 1) baixas concentrações de HDL-C (HDL-C abaixo de 68 mg/dL: $n = 59$); 2) concentrações intermediárias (HDL-C 68 a 80 mg/dL: $n = 71$) e altas concentrações de HDL-C (HDL-C > 80 mg/dL: $n = 63$).

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas aprovou todos os procedimentos sob parecer número 790/2006. Todos os participantes assinaram uma declaração de consentimento para participar do estudo.

Coleta de amostras e métodos analíticos

Foram coletadas amostras de sangue venoso após jejum de 12 horas nos indivíduos selecionados para participar do estudo. As amostras foram centrifugadas (4 °C, 1000 g, 10 minutos) para separação de soro e plasma EDTA e armazenadas a -80 °C até a análise. Foi coletada outra amostra de sangue em jejum de 12 horas durante uma segunda visita 15 minutos após a administração intravenosa de heparina (Liquemine® Roche, 100 U/kg de peso corporal).

Colesterol total, triglicerídeos e fosfolípidios no soro e os dois primeiros analitos em lipoproteínas foram analisados por métodos enzimático-colorimétricos (BM Hitachi 917 Roche, Mannheim, Alemanha). Foram medidas a apolipoproteína B100 e a apolipoproteína AI (ApoAI) em um sistema

automatizado BN II (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Alemanha), utilizando ensaios comercialmente disponíveis (Dade-Boehringer®, Deerfield, Illinois, EUA). Foi analisado o HDL-C por um método direto homogêneo. O colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) foi calculado pela fórmula de Friedewald.¹³

Para obter as subfrações de HDL, as lipoproteínas que continham ApoB foram precipitadas por sulfato de dextrano, e o sobrenadante foi submetido a micro-ultracentrifugação sequencial utilizando o Airfuge/75B (Beckman Instruments, Palo Alto, Califórnia, EUA).

As atividades plasmáticas da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) e da proteína de transferência de fosfolípidios (PLTP) foram determinadas por meio de ensaios radiométricos usando substratos exógenos conforme descrito anteriormente.^{14,15} As atividades da lipase hepática (LH) e da lipoproteína lipase (LPL) foram medidas em amostras de plasma pós-heparina, coletadas 15 minutos após a administração intravenosa de heparina (100 U/kg de peso corporal). O ensaio foi baseado na liberação de ácidos graxos, utilizando uma emulsão de trioleína radiomarcada como substrato, e NaCl 1M como inibidor de LPL.¹⁶

Foi medida a proteína C-reativa de alta sensibilidade (hsCRP) por imunoturbidimetria utilizando o ensaio de alta sensibilidade Tina-quant® CRP (látex) (Roche Diagnostics®, Mannheim, Alemanha) na plataforma analítica Hitachi-Roche. Foi usado um kit ELISA comercial fabricado pela R&D para medir o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

Foi usado o método ELISA para medir oxLDL-Ab no plasma de todos os participantes.^{17,18} Resumidamente, placas de microtitulação de poliestireno (Costar, Cambridge, Massachusetts, EUA) foram revestidas com 1 μ g/ml de oxLDL humana (20 mM Cu²⁺, 24 horas) em tampão carbonato/bicarbonato (20 μ L/poço), pH 9,4, e armazenadas durante a noite a 4 °C. As placas foram bloqueadas com uma solução de leite desnatado a 5% (Molico/Nestlé, São Paulo, Brasil) e, na sequência, incubadas por 2 horas em temperatura ambiente seguida por 4 lavagens com PBS (100 μ L). Amostras de plasma (20 μ L) foram adicionadas e as placas foram incubadas durante a noite a 4 °C seguidas por lavagem com 1% Tween 20 em PBS. O anticorpo IgG anti-rato de coelho conjugado com peroxidase (20 μ L; 1:1,500) foi então adicionado e, após 1 hora à temperatura ambiente, as placas foram lavadas. Em seguida, 75 μ L de solução de substrato (250 mg de tetrametilbenzidina diluídos em 50 mL de DMSO, 10 μ L de 30% H₂O₂, 12 mL de tampão citrato, pH 5,5) foram incorporados à mistura e, após incubação à temperatura ambiente por 15 minutos, a reação foi interrompida pela adição de 25 μ L de ácido sulfúrico 2,0 M. A densidade óptica foi lida em um leitor de microplacas (Titertek Multiskan MCC/340P, modelo 2.20, Labsystems, Finlândia) a 450 nm.

Para todas as variáveis medidas, isto é, lipídios, marcadores inflamatórios e atividades enzimáticas, os coeficientes de variação intra/inter-ensaio aceitamos variaram de 3% a 10% e de 10% a 15%, respectivamente.

Análise estatística

Os dados são média \pm desvio padrão para dados com distribuição normal e mediana (intervalo interquartil) para dados não paramétricos, enquanto as variáveis categóricas são apresentadas como número de casos (porcentagens). A normalidade das variáveis contínuas foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. ANOVA de uma via com teste post hoc de Bonferroni e o teste Kruskal-Wallis com post hoc de Dunn-Bonferroni foram usados para comparar a distribuição de dados contínuos paramétricos e não paramétricos entre os grupos, respectivamente. O teste do qui-quadrado com ajuste de Bonferroni foi empregado para comparar a frequência entre os grupos de dados categóricos.

A regressão linear foi utilizada para avaliar a relação entre a variável independente, oxLDL-Ab, e a variável dependente, HDL-C. Este teste foi realizado após a verificação dos pressupostos de normalidade, linearidade, homocedasticidade e independência. A análise de regressão linear ajustada foi utilizada para avaliar a relação entre as variáveis independentes, HDL-C, ApoAI e HDL-3C, e a variável dependente, oxLDL-Ab, após ajuste por covariáveis. Os resultados apresentados como coeficientes de determinação (R²) representam a porcentagem de variação da variável dependente explicada pelas variáveis independentes. Valores de probabilidade (p) menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Todas as análises foram realizadas no software SPSS versão 20.0 para Mac.

Resultados

A Tabela 1 mostra as comparações das características clínicas, antropométricas e bioquímicas entre todos os subgrupos de HDL. Os participantes foram colocados, de acordo com suas concentrações de HDL-C, em uma das três categorias estatisticamente diferentes (p \leq 0,006): baixa (< 60 mg/dL), intermediária (68 a 80 mg/dL) ou alta (> 80 mg/dL).

Quando comparado ao tercil mais baixo de HDL-C, o tercil mais alto apresentava mais mulheres, idades mais avançadas e, como esperado, maior concentração de colesterol. As atividades de LH e CETP foram reduzidas, e LH e PLTP aumentaram no tercil mais alto de HDL-C em comparação com o tercil mais baixo. Não foram encontradas diferenças em hsCRP e TNF α . Vale ressaltar que os níveis de oxLDL-Ab foram significativamente maiores entre no grupo com HDL-C alta, em comparação ao grupo com HDL-C baixa.

Para explorar a influência das variáveis independentes, concentração de HDL-C, tercís de HDL-C, sexo, ApoAI, ApoB, marcadores inflamatórios e idade, na variável dependente, oxLDL-Ab, foi realizada uma análise de regressão linear, conforme mostrado na Tabela 2. Os níveis de OxLDL-Ab foram influenciados pela idade, HDL-C, tercís de HDL-C, HDL-3C e ApoAI.

Na análise de regressão ajustada, apenas HDL-C e ApoAI foram independentemente relacionados aos níveis de oxLDL-Ab no modelo ajustado pelas covariáveis de idade e ApoB, conforme mostrado na Tabela 3.

Modelos de curva de regressão linear das relações de HDL e ApoAI com oxLDL-Ab são mostrados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 – Características clínicas, antropométricas e bioquímicas de indivíduos com concentrações diferentes de HDL-C

Parâmetros	Baixa (< 68 mg/dL)	Intermediária (68 a 80 mg/dL)	Alta (> 80 mg/dL)	Valor p
n	59	71	63	
Idade (anos)	36±14	52±12	53±13	0,001 ^{1,2}
Sexo masculino (%)	42,6	11,7	20,9	0,001
IMC (kg/m ²)	24±5	25±5	25±5	0,158
PAS (mmHg)	119±13	124±14	130±18	0,001 ^{1,3}
PAD (mmHg)	77±9,2	79±10	83±11	0,006 ¹
Colesterol (mg/dL)	170±45	224±37	231±38	0,001 ^{1,2}
TG (mg/dL)	77 (38)	98 (39)	87 (40)	0,008 ²
Fosfolípidios (mg/dL)	206±54	225±41	228±48	0,023 ¹
HDL-C (mg/dL)	51±5,6	73±3,9	86±4,7	0,001 ^{1,2,3}
HDL ₂ -C (mg/dL)	11±2,9	17±4,6	19±4,7	0,001 ^{1,2,3}
HDL ₃ -C (mg/dL)	36±6	55±7,6	64±6,7	0,001 ^{1,2,3}
HDL ₂ TG (mg/dL)	6,8±4,8	8,6±4,7	24±9,8	0,022 ¹
HDL ₃ TG (mg/dL)	51±5,5	73±4	86±4,7	0,001 ^{1,2}
LDL-C (mg/dL)	105±37	130±35	127±35	0,001 ^{1,2}
VLDL (mg/dL)	15±7,9	19±7,9	17±8,0	0,020 ²
ApoAI (mg/dL)	140±27	180±24	195±31	0,001 ^{1,2,3}
ApoB100 (mg/dL)	82±30	104±25	101±26	0,001 ^{1,2}
LH (nmol/AGL/mL/h)	2529 (1361)	1539 (973)	1561 (1018)	0,001 ^{1,2}
LPL (nmol/AGL/mL/h)	2313 (1012)	2497 (1690)	2880 (1522)	0,091
CETP (%)	15,8±8,3	10,4±6,9	10,7±7,6	0,001 ^{1,2}
PLTP (%)	14,4±10,4	19,5±11,4	18,3±16,1	0,020 ²
hsCRP (mg/L)	0,38±0,63	0,44±0,54	0,32±0,41	0,451
TNF-α (pg/mL)	9,8±9,3	11±12,3	12±12,1	0,756
oxLDL-Ab (OD)	0,31±0,17	0,33±0,16	0,43±0,17	0,001 ¹
EMIC média (mm)	0,62±0,12	0,90±0,24	0,86±0,22	0,001 ^{1,2}
Uso de álcool % (n)	16,1	24,7	28,4	0,265
DAC % (n)	9,4	6,8	9,0	0,866

Os dados são representados como média ± desvio padrão e mediana (intervalo interquartil) quando distribuídos normalmente e não normalmente, respectivamente, e como número (%) quando categóricos. Baixa: HDL-C < 68; intermediária: HDL-C 68 a 80 mg/dL; alta: HDL-C > 80 mg/dL. AGL: ácidos graxos livres; ApoAI: apolipoproteína AI; ApoB100: apolipoproteína B100; C: colesterol; CETP: proteína de transferência de éster de colesterol; DAC: doença arterial coronariana; EMIC: espessura médio-intimal carotídea; HDL: lipoproteína de alta densidade; hsCRP: proteína C-reativa de alta sensibilidade; IMC: índice de massa corporal; LDL: lipoproteína de baixa densidade; LH: lipase hepática; LPL: lipoproteína lipase; PAD: pressão arterial diastólica; PAS: pressão arterial sistólica; oxLDL-Ab: autoanticorpos contra lipoproteína de baixa densidade oxidada; PLTP: proteína de transferência de fosfolípidios; TG: triglicerídeos; TNF-α: fator de necrose tumoral alfa; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Os valores de p foram obtidos por ANOVA de uma via e teste de Kruskal-Wallis para variáveis contínuas com distribuição normal e não normal, e pelo teste qui-quadrado para dados categóricos. As diferenças entre os grupos são representadas por ¹(baixo ≠ alto), ²(baixo ≠ intermediário), ³(intermediário ≠ alto).

Discussão

A retenção de oxLDL na camada subendotelial da parede arterial é um passo inicial da aterosclerose.¹⁹ A oxLDL liga-se a receptores scavenger, como Lox1 e SR-B1, para desencadear vias deletérias que culminam na progressão da placa.²⁰ Além do transporte reverso de colesterol, a HDL modula a imunidade humoral da placa aterosclerótica, regulando positivamente a resposta de IL5 e Th2, que estão

envolvidas na ativação de células B e na liberação de oxLDL-Ab.²¹ Correspondentemente, nosso estudo, pela primeira vez, encontrou uma correlação positiva independente entre níveis séricos de HDL-C e oxLDL-Ab.

Dados experimentais anteriores demonstraram consistentemente um papel ateroprotetor para oxLDL-Ab. De uma perspectiva mecanicista, oxLDL-Ab coloca-se na placa aterosclerótica, onde se liga a epítomos de oxLDL,

Tabela 2 – Regressão linear simples usando oxLDL-Ab como variável dependente

Variáveis independentes	B (SE)	Valor p	R	R ²
Idade	0,002 (,001)	0,027	0,216	0,047
Sexo masculino	8,66 (,029)	0,998	0,000	0,000
HDL-C	0,002 (,001)	0,004	0,293	0,086
Tercis de HDL	0,042 (,015)	0,006	0,276	0,076
HDL-2C	0,004 (,002)	0,054	0,191	0,036
HDL-3C	0,002 (,001)	0,016	0,237	0,056
ApoAI	0,001 (,000)	0,002	0,308	0,095
LDL	0,000 (,000)	0,179	0,132	0,017
ApoB	0,001 (,000)	0,204	0,126	0,016
hsCRP	0,052 (,032)	0,105	0,177	0,031
TNF- α	0,002 (,001)	0,086	0,225	0,051
EMIC	0,146 (,085)	0,093	-0,25	0,316

Regressão linear simples. ApoAI: apolipoproteína AI; ApoB: apolipoproteína B; C: colesterol; EMIC: espessura médio-intimal da carótida; HDL: lipoproteína de alta densidade; hsCRP: proteína C reativa de alta sensibilidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; oxLDL-Ab: autoanticorpos contra lipoproteína de baixa densidade oxidada; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 3 – Regressão linear ajustada por covariáveis

Variáveis independentes	Modelos	B (SE)	Valor p	R	R ²
HDL-C	HDL-C Idade	0,002 (,001)	0,044	0,30	0,090
	HDL-C ApoB	0,002 (,001)	0,011	0,279	0,078
HDL-3C	HDL-3C Idade	0,001 (,001)	0,166	0,272	0,074
	HDL-3C ApoB	0,002 (,001)	0,054	0,234	0,055
ApoAI	ApoAI Idade	0,153 (,059)	0,019	0,318	0,101
	ApoAI ApoB	0,001 (,00)	0,004	0,310	0,096

Regressão linear ajustada. ApoAI: apolipoproteína AI; ApoB: apolipoproteína B; HDL-C: colesterol de lipoproteína de alta densidade.

formando complexos imunes que não podem interagir com os receptores Fc γ de macrófagos.^{13,22} Como resultado, a neutralização de epítopos de oxLDL por oxLDL-Ab impede a ativação de macrófagos, interrompendo uma via imperativa de progressão da placa.¹³ Em consonância com isso, Dai et al.²³ demonstraram que o pré-tratamento de macrófagos com oxLDL-Ab preveniu a morte celular induzida por oxLDL e a ativação de NF-kappaB. De acordo com isso, o tratamento com oxLDL-Ab significativamente reduziu a área transversal da placa aterosclerótica e a molécula de adesão celular vascular 1, e mitigou a captação de macrófagos em camundongos LDLr^{-/-}.^{22,24}

Dados cumulativos de estudos clínicos também apoiaram o papel de oxLDL-Ab como marcador de doença cardiovascular. A esse respeito, os níveis séricos

de oxLDL-Ab consistentemente mostraram uma correlação inversa independente com a espessura íntima-média da artéria carótida comum e a progressão da aterosclerose carotídea.^{16,25-30} Por exemplo, em uma coorte de 226 pacientes com hipertensão inscritos prospectivamente na análise por ultrassonografia carotídea, aqueles com menor valor de oxLDL-Ab mostraram um risco 3 vezes menor que qualquer progressão da espessura íntima-média das artérias carótidas ao longo 4 anos.³¹ De forma semelhante, entre os indivíduos submetidos à angiografia coronária clinicamente indicada, aqueles nos tercis mais altos de oxLDL-Ab tiveram um risco 37% menor de aterosclerose coronariana angiograficamente significativa e apresentaram um número menor de artérias com doença quando comparados àqueles com os níveis mais baixos de

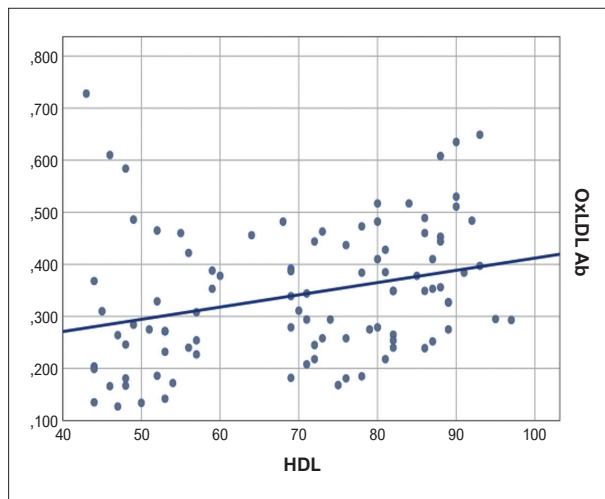


Figura 1 – Modelo de curva: oxLDL-Ab versus HDL. HDL: lipoproteína de alta densidade; oxLDL-Ab: autoanticorpos contra lipoproteína de baixa densidade.

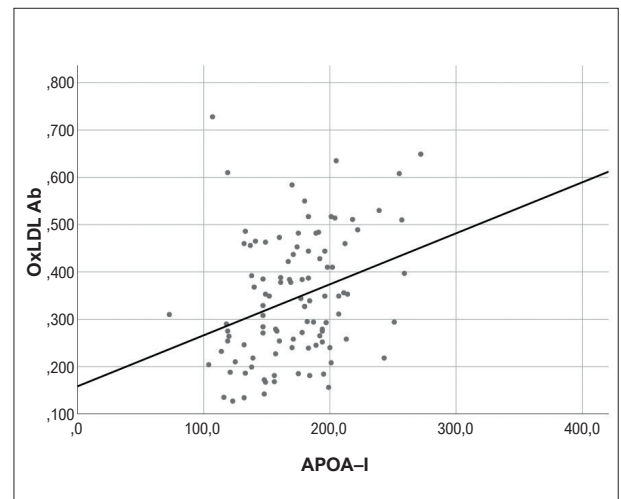


Figura 2 – Modelo de curva: oxLDL-Ab versus ApoAI. ApoAI: apolipoproteína AI; oxLDL-Ab: autoanticorpos contra lipoproteína de baixa densidade.

anticorpos.^{32,33} Consistentemente, Shoji et al.³⁴ observaram um aumento de 2 vezes na mortalidade cardiovascular em 5 anos entre indivíduos com doença renal em estágio final e baixo oxLDL-Ab, quando comparados a pacientes com doença renal em estágio final com níveis mais elevados de oxLDL-Ab.

Além do exposto, verificamos uma correlação independente positiva entre os níveis séricos de HDL-C e oxLDL-Ab. De uma perspectiva mecanicista, esse achado pode derivar dos efeitos imunomoduladores de HDL na resposta Th2, que razoavelmente potencializa a liberação de oxLDL-Ab. Essa hipótese ainda merece uma investigação mais profunda. Outras razões potenciais para a correlação verificada podem ser destacadas, por exemplo, experimentalmente, a captação de HDL atenuada de oxLDL por macrófagos. Isso pode resultar no acúmulo de oxLDL no microambiente da placa, favorecendo a resposta humoral local.³⁵

O presente estudo teve algumas limitações. Mais importante, assumimos que HDL induz oxLDL-Ab modulando a resposta Th2 relacionada a IL5. No entanto, não foi realizada a medição da IL5. Além disso, os níveis de oxLDL, que estão intimamente relacionados à liberação de oxLDL-Ab, também não foram avaliados e teriam sido uma variável de ajuste razoável em nossos modelos. Por fim, o tamanho da amostra foi relativamente pequeno, o que pode ter comprometido o poder estatístico para afirmar a correlação.

Conclusão

Os níveis séricos de oxLDL-Ab e HDL-C estão positivamente relacionados.

Agradecimentos

Agradecemos a assistência técnica e estatística prestada por Mirian Danelon e por Helymar Machado (Universidade

de Campinas). Também agradecemos o apoio laboratorial de Dr. Eder CR Quintão, do Laboratório Lipídico da Universidade de São Paulo.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Sposito AC, Faria EC; Obtenção de dados: Nunez CEC, Zago VHS, Kaplan DB, Gomes EIL, Sposito AC; Análise e interpretação dos dados: Oliveira JB, Barros-Mazon S, Cazita PM, Nakandakare E, Carmo HR, Faria EC; Análise estatística: Oliveira JB; Obtenção de financiamento: Faria EC; Redação do manuscrito: Nunez CEC, Oliveira JB, Zago VHS; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Oliveira JB, Barros-Mazon S, Cazita PM, Nakandakare E, Carmo HR, Sposito AC, Faria EC; Realizou todas as medições da espessura íntima-média da carótida: Nakamura RT; Realizou os ensaios para quantificar os títulos de anti-oxLDL Ab: Gidlund MA; Auxiliou na coleta de amostras, realizou os experimentos: Gomes EIL.

Potencial conflito de interesse

Não há conflito com o presente artigo

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado por Bolsa de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) n° 2006/60585-9, da Fundação de Amparo ao Ensino e à Pesquisa da Universidade Estadual de Campinas (Faepex) n° 179/18 e 2634/19, e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, bolsa n° 308169/2018-0, Brasil.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de mestrado de Carla Evelyn Coimbra Nunez pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Referências

1. Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively Modified Low Density Lipoproteins: A Potential Role in Recruitment and Retention of Monocyte/Macrophages During Atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84(9):2995-8. doi: 10.1073/pnas.84.9.2.
2. Lopes-Virella MF, Virella G. Clinical Significance of the Humoral Immune Response to Modified LDL. *Clin Immunol*. 2010;134(1):55-65. doi: 10.1016/j.clim.2009.04.001.
3. Tsiantoulas D, Gruber S, Binder CJ. B-1 Cell Immunoglobulin Directed Against Oxidation-Specific Epitopes. *Front Immunol*. 2013;3:415. doi: 10.3389/fimmu.2012.00415.
4. George J, Afek A, Gilburd B, Levkovitz H, Shaish A, Goldberg I, et al. Hyperimmunization of Apo-E-Deficient Mice with Homologous Malondialdehyde Low-Density Lipoprotein Suppresses Early Atherogenesis. *Atherosclerosis*. 1998;138(1):147-52. doi: 10.1016/s002.
5. Zhou X, Caligiuri G, Hamsten A, Lefvert AK, Hansson GK. LDL Immunization Induces T-Cell-Dependent Antibody Formation and Protection Against Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(1):108-14. doi: 10.1161/01.atv.21.1.108.
6. Shaw PX, Hökkö S, Tsimikas S, Chang MK, Palinski W, Silverman GJ, et al. Human-Derived Anti-Oxidized LDL Autoantibody Blocks Uptake of Oxidized LDL by Macrophages and Localizes to Atherosclerotic Lesions in Vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(8).
7. Schioppa A, Frensdés B, Jansson B, Söderberg I, Ljungcrantz I, Araya Z, et al. Recombinant Antibodies to an Oxidized Low-Density Lipoprotein Epitope Induce Rapid Regression of Atherosclerosis in Apobec-1(-)/Low-Density Lipoprotein Receptor(-) Mice. *J A*.
8. Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kimura J, Kanda H, et al. Inverse Relationship Between Circulating Oxidized Low Density Lipoprotein (oxLDL) and Anti-oxLDL Antibody Levels in Healthy Subjects. *Atherosclerosis*. 2000;148(1):171-7. doi: 10.1016.
9. van den Berg VJ, Vroegindewey MM, Kardys I, Boersma E, Haskard D, Hartley A, et al. Anti-Oxidized LDL Antibodies and Coronary Artery Disease: A Systematic Review. *Antioxidants*. 2019;8(10):484. doi: 10.3390/antiox8100484.
10. Chou MY, Fogelstrand L, Hartvigsen K, Hansen LF, Woelkers D, Shaw PX, et al. Oxidation-Specific Epitopes are Dominant Targets of Innate Natural Antibodies in Mice and Humans. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1335-49. doi: 10.1172/JCI36800.
11. Newton AC. Regulation of the ABC Kinases by Phosphorylation: Protein Kinase C as a Paradigm. *Biochem J*. 2003;370(Pt 2):361-71. doi: 10.1042/BJ20021626.
12. Catapano AL, Pirillo A, Bonacina F, Norata GD. HDL in Innate and Adaptive Immunity. *Cardiovasc Res*. 2014;103(3):372-83. doi: 10.1093/cvr/cvu150.
13. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in Atherosclerosis: A Dynamic Balance. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(10):709-21. doi: 10.1038/nri3520.
14. Lagrost L. Determination of the Mass Concentration and the Activity of the Plasma Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP). *Methods Mol Biol*. 1998;110:231-41. doi: 10.1385/1-59259-582-0:231.
15. Jauhiainen M, Ehnholm C. Determination of Human Plasma Phospholipid Transfer Protein Mass and Activity. *Methods*. 2005;36(2):97-101. doi: 10.1016/j.ymeth.2004.11.006.
16. Fukumoto M, Shoji T, Emoto M, Kawagishi T, Okuno Y, Nishizawa Y. Antibodies Against Oxidized LDL and Carotid Artery Intima-Media Thickness in a Healthy Population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(3):703-7. doi: 10.1161/01.atv.20.3.703.
17. Gidlund, 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(12):1625-8.
18. Cazita PM, Berti JA, Aoki C, Gidlund M, Harada LM, Nunes VS, et al. Cholesteryl Ester Transfer Protein Expression Attenuates Atherosclerosis in Ovariectomized Mice. *J Lipid Res*. 2003;44(1):33-40. doi: 10.1194/jlr.m100440-jlr20.
19. Skälén K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hultén LM, Wiklund O, Innerarity TL, et al. Subendothelial Retention of Atherogenic Lipoproteins in Early Atherosclerosis. *Nature*. 2002;417(6890):750-4. doi: 10.1038/nature00804.
20. Barreto J, Karathanasis SK, Remaley A, Sposito AC. Role of LOX-1 (Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor 1) as a Cardiovascular Risk Predictor: Mechanistic Insight and Potential Clinical Use. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021;41(1):153-16.
21. Rosenson RS, Brewer HB Jr, Barter PJ, Björkegren JLM, Chapman MJ, Gaudet D, et al. HDL and Atherosclerotic Cardiovascular Disease: Genetic Insights Into Complex Biology. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(1):9-19. doi: 10.1038/nrcardio.2017.115.
22. Li Y, Lu Z, Huang Y, Lopes-Virella MF, Virella G. F(ab')₂ Fragments of Anti-Oxidized LDL IgG Attenuate Vascular Inflammation and Atherogenesis in Diabetic LDL Receptor-Deficient Mice. *Clin Immunol*. 2016;173:50-56. doi: 10.1016/j.clim.2016.07.020.
23. Dai R, Dong J, Li W, Zhou Y, Zhou W, Zhou W, et al. Antibody to Oxidized Low-Density Lipoprotein Inhibits THP1 Cells From Apoptosis by Suppressing NF-κB Pathway Activation. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2019;9(4):355-61. doi: 10.21037/cdt.2019.08.01.
24. Grosso DM, Ferderbar S, Wanschel AC, Krieger MH, Higushi ML, Abdalla DS. Antibodies Against Electronegative LDL Inhibit Atherosclerosis in LDLr-/- Mice. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41(12):1086-92. doi: 10.1590/s0100-879x2008001200007.
25. Pawlak K, Mysliwiec M, Pawlak D. Oxidized LDL to Autoantibodies Against oxLDL Ratio - The New Biomarker Associated with Carotid Atherosclerosis and Cardiovascular Complications in Dialyzed Patients. *Atherosclerosis*. 2012;224(1):252-7. doi: 10.1016/j.ather.
26. Chen HW, Kuo CL, Huang CS, Kuo SJ, Liu CS. Oxidized Low-Density Lipoproteins, Autoantibodies Against Oxidized Low-Density Lipoproteins and Carotid Intima Media Thickness in a Clinically Healthy Population. *Cardiology*. 2008;110(4):252-9. doi: 10.1159/00011.
27. Nowak B, Madej M, Łuczak A, Malecki R, Wiland P. Disease Activity, Oxidized-LDL Fraction and Anti-Oxidized LDL Antibodies Influence Cardiovascular Risk in Rheumatoid Arthritis. *Adv Clin Exp Med*. 2016;25(1):43-50. doi: 10.17219/acem/29847.
28. Shoji T, Kimoto E, Shinohara K, Emoto M, Ishimura E, Miki T, et al. The Association of Antibodies Against Oxidized Low-Density Lipoprotein with Atherosclerosis in Hemodialysis Patients. *Kidney Int Suppl*. 2003;(84):S128-30. doi: 10.1046/j.1523-1755.63.s84.
29. Hulthe J, Wiklund O, Hurt-Camejo E, Bondjers G. Antibodies to Oxidized LDL in Relation to Carotid Atherosclerosis, Cell Adhesion Molecules, and Phospholipase A(2). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(2):269-74. doi: 10.1161/01.atv.21.2.269.
30. Karvonen J, Päiväsalo M, Kesäniemi YA, Hökkö S. Immunoglobulin M Type of Autoantibodies to Oxidized Low-Density Lipoprotein has an Inverse Relation to Carotid Artery Atherosclerosis. *Circulation*. 2003;108(17):2107-12. doi: 10.1161/01.CIR.0000092891.5515.
31. Su J, Georgiades A, Wu R, Thulin T, Faire U, Frostegård J. Antibodies of IgM Subclass to Phosphorylcholine and Oxidized LDL are Protective Factors for Atherosclerosis in Patients with Hypertension. *Atherosclerosis*. 2006;188(1):160-6. doi: 10.1016/j.athero.

32. Garrido-Sánchez L, Chinchurreta P, García-Fuentes E, Mora M, Tinahones FJ. A Higher Level of IgM Anti-Oxidized LDL Antibodies is Associated with a Lower Severity of Coronary Atherosclerosis in Patients on statins. *Int J Cardiol.* 2010;145(2):263-4. doi: 10.1016/j.ijcard.2009.09.472.
33. Tsimikas S, Brilakis ES, Lennon RJ, Miller ER, Witztum JL, McConnell JP, et al. Relationship of IgG and IgM Autoantibodies to Oxidized Low Density Lipoprotein with Coronary Artery Disease and Cardiovascular Events. *J Lipid Res.* 2007;48(2):425-33. doi: 10.1194/jlr.M600361-JLR200.
34. Shoji T, Fukumoto M, Kimoto E, Shinohara K, Emoto M, Tahara H, et al. Antibody to Oxidized Low-Density Lipoprotein and Cardiovascular Mortality in End-Stage Renal Disease. *Kidney Int.* 2002;62(6):2230-7. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00692.x.
35. Carvalho MD, Vendrame CM, Ketelhuth DF, Yamashiro-Kanashiro EH, Goto H, Gidlund M. High-Density Lipoprotein Inhibits the Uptake of Modified Low-Density Lipoprotein and the Expression of CD36 and FcγRI. *J Atheroscler Thromb.* 2010;17(8):844-57. doi: 10.5551/jat.3905.



Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença de atribuição pelo Creative Commons