

Los anticuerpos frente a las formas modificadas de la LDL. Un tema por dilucidar

L. Garrido-Sánchez^a, P. Chinchurreta^b y F. Tinahones-Madueño^c

^aLaboratorio de Investigación. Hospital Civil. Málaga. España.

^bServicio de Cardiología. Hospital Regional Carlos Haya. Málaga. España.

^cEndocrinología y Nutrición. Hospital Regional Carlos Haya. Málaga. España.

LDL oxidadas y aterosclerosis

Actualmente no hay duda de que la hipercolesterolemia se asocia a un mayor riesgo de aterosclerosis. En varios estudios epidemiológicos se ha observado que las concentraciones aumentadas en plasma del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) representan uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de esta enfermedad. Sin embargo, hasta el 50% de los pacientes con enfermedad cardiovascular no tienen hipercolesterolemia¹ y ante una misma concentración plasmática de cLDL, existe una gran variabilidad en cuanto a la extensión de la aterosclerosis y la expresión clínica de la enfermedad. Existe una relación directa y muy significativa entre el cLDL y el número de partículas circulantes LDL.

Hasta ahora, las LDL han sido consideradas la lipoproteínas causantes de la iniciación de la secuencia de eventos que llevan al desarrollo de la aterosclerosis pero han sido numerosos marcadores bioquímicos de éstas los que se han valorado para definir el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular. De entre ellos, se ha observado que la LDL modificada por oxidación (LDL oxidada [LDL^{ox}]) desempeña un papel significativo en la progresión arteriosclerótica², desarrollándose a partir de este hecho la hipótesis oxidativa de la aterosclerosis que considera la modificación oxidativa de la LDL o de otras lipoproteínas como la pieza clave en la etiopatogenia de la lesión aterosclerótica³. La modificación oxidativa de la LDL es un requisito para la rápida acumulación de partículas LDL dentro de los macrófagos originando células espumo-

sas; se ha aislado LDL^{ox} a partir de extractos de las lesiones ateroscleróticas⁴. Hoy día, existe el acuerdo de que la LDL^{ox} desempeña un papel clave en el desarrollo de la aterosclerosis⁵.

Capacidad inmunogénica de la LDL oxidada

Se ha descrito que modificaciones menores en la partícula de LDL la hace altamente inmunogénica, induciendo epítomos inmunogénicos que estimulan la formación de anticuerpos frente a éstos⁶. Una de las modificaciones más inmunogénicas que pueden sufrir las LDL es la oxidación.

La susceptibilidad a ser oxidadas de las partículas de LDL depende, entre otros factores, de la diferente composición de ácidos grasos libres o esterificados⁷. Además, se conoce la mayor facilidad *in vitro* de las LDL pequeñas y densas para ser oxidadas⁸. Sin embargo, se desconoce la influencia que puede tener la diferente oxidabilidad de la LDL en la producción de estos autoanticuerpos⁹. Se han descrito anticuerpos contra formas oxidadas de LDL conteniendo malondialdehído (MDA), así como contra LDL modificadas por glucación o contra otras lipoproteínas modificadas, como Lp(a) modificada oxidativamente¹⁰.

Anticuerpos anti-LDL oxidada como marcadores de riesgo de aterosclerosis

Estos anticuerpos se han detectado en la mayoría de los pacientes con lesiones ateroscleróticas avanzadas¹¹, demostrándose el incremento de sus concentraciones en pacientes con aterosclerosis coronaria^{9,12,13} y enfermedad arterial cerebral o periférica¹⁴; los anticuerpos anti-LDL^{ox} se han relacionado con la predicción de progresión de lesiones ateroscleróticas en la carótida¹⁵. Además, su presencia se ha asociado con un alto riesgo de reestenosis después de una angioplastia coronaria percutánea¹⁶.

Los anticuerpos frente a LDL modificada se han detectado en las placas de ateroma¹⁷. Por otro lado,

Correspondencia: Dra. L. Garrido-Sánchez.
Plaza Hospital Civil, s/n. Pabellón 5, Sótano.
29009 Málaga. España.
Correo electrónico: lourgarrido@hotmail.com

se ha demostrado que la captación de los inmunocomplejos que contienen LDLox por el macrófago conduce a la transformación del macrófago en célula espumosa y a su activación posterior¹⁸⁻²². Por último, se ha observado que la activación del macrófago por un inmunocomplejo que contenga LDLox provoca un incremento en la secreción de factor de necrosis tumoral e interleucina 1²³, y se sabe que ambas moléculas tienen un considerable impacto en el desarrollo de la arteriosclerosis^{24,25}.

Anticuerpos anti-LDL oxidada protectores del riesgo de aterosclerosis

En la actualidad se discute cuál es el valor clínico de los autoanticuerpos anti-LDLox por varios motivos. En pacientes diabéticos no se ha descrito asociación de éstos con la afectación microvascular²⁶, mientras que, por otro lado, no se ha encontrado asociación entre los valores de autoanticuerpos anti-LDLox y las concentraciones de colesterol en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota²⁷, o el grado de oxidabilidad del suero²⁸. Se ha descrito una asociación inversa entre las concentraciones de colesterol y las de autoanticuerpos frente a LDLox en población general²⁹. Otros estudios han encontrado una correlación positiva entre la concentración de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) del suero y los anticuerpos frente a LDL que contienen MDA, sugiriendo que la HDL podría promover su producción³⁰.

Trabajos recientes no han observado relación entre los valores de anticuerpos frente a la LDLox y enfermedad coronaria³¹; otros autores han descrito una relación inversa entre anticuerpos IgM anti-LDLox y aterosclerosis carotídea³². En varios modelos experimentales se ha demostrado que la inmunización con LDLox induce valores elevados de anticuerpos y disminuye el grado de aterosclerosis. En conejos hipercolesterolémicos se ha demostrado que valores altos de inmunización con homólogos de LDL y homólogos de LDLox con Cu²⁺ reducen la lesión de la íntima tras una dieta rica en colesterol³³. También se ha observado una correlación negativa entre los títulos de anti-LDL que contienen MDA y las lesiones ateroscleróticas observadas en ratones inmunizados³⁴. Estos resultados confirman estudios previos realizados por Palinski et al³⁵ que demostraron que la inmunización de conejos deficientes en el receptor de LDL con homólogos de LDL modificada que contiene MDA reducían la formación de placas ateromatosas. Estos mismos hallazgos se han descrito en ratones deficientes en apo E³⁶. Finalmente, también se ha de-

mostrado que los anticuerpos anti-LDLox localizados en la lesión aterosclerótica bloquean la captación de la LDLox por el macrófago, sugiriendo un papel potencial en la prevención de la formación de la célula espumosa^{37,38}.

En conclusión, estos estudios sugieren que la presencia de una reacción inmunitaria contra la LDLox puede ayudar a inhibir la formación de una lesión temprana aterosclerótica.

Más controversia

Para generar más controversia a todo lo anteriormente presentado, el significado clínico de los anticuerpos anti-LDL modificada en poblaciones de pacientes con enfermedades autoinmunitarias y aterosclerosis, parece ser diferente que en la población general. Se ha demostrado que la presencia de estos anticuerpos está asociada a la trombosis arterial en diferentes enfermedades autoinmunitarias.

En pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) se ha descrito una mayor presencia de anticuerpos anti-LDLox, pero su valor clínico es controvertido; en algunos estudios se ha hallado una estrecha asociación con la trombosis arterial³⁹, mientras que en otros no⁴⁰. Además, en pacientes con síndrome antifosfolípido^{41,42} y en pacientes con esclerodermia⁴³ se ha descrito una asociación entre la trombosis arterial y el valor de autoanticuerpos anti-LDLox.

Por otro lado, se ha demostrado que los valores de anticuerpos frente a la LDLox se relacionan con las variables analíticas relacionadas con la actividad del LES⁴⁴, y se encontró una estrecha conexión entre los valores de anticuerpos anti-LDLox y los valores totales de inmunoglobulina (Ig) G, valores de complemento y grado actividad de la enfermedad. Esto hace pensar que las concentraciones elevadas de anticuerpos anti-LDLox sean reflejo de la actividad autoinmunitaria.

Finalmente...

Se pueden valorar muchas hipótesis para justificar la diversidad de resultados obtenidos al evaluar la relación LDLox y enfermedad cardiovascular.

1. Una de ellas podría ser la diferente técnica utilizada en la determinación de la cantidad de anticuerpos IgG total frente a la LDL modificada, ya que estos autoanticuerpos son altamente heterogéneos y difieren no sólo para la clase de IgG sino también para la especificidad y afinidad del epítipo⁴⁵. No existen estudios que aclaren si difieren en su significado clínico los valores de IgG frente a LDL modificada en función del tipo de su

modificación (LDL que contiene MDA, LDL glucosilada).

2. Por otro lado, se ha observado que la técnica de determinación de IgG frente a LDLox presenta importantes variaciones en función de que la LDL utilizada como antígeno en el sistema de enzoinmunoanálisis utilizado para la medida, sea de pacientes con hipercolesterolemia o normocolesterolemia⁹. Otro ejemplo del posible diferente significado clínico (en función del antígeno utilizado para la determinación) es el mayor efecto preventivo frente a la aterosclerosis de la inmunización con anticuerpos anti-LDL observados en modelos animales, cuando los anticuerpos están dirigidos frente a la fosforilcolina que cuando los anticuerpos van dirigidos frente al MDA⁴⁶.

3. Parece que existen diferencias importantes en función de que se midan los anticuerpos de clase IgG o IgM frente a LDLox. La clase IgM se ha relacionado últimamente, de forma más estrecha, con un posible efecto protector para el desarrollo de aterosclerosis³².

4. Falta por investigar si la medida de los anticuerpos anti-LDLox libres (no formando inmunocomplejos con LDLox), tanto IgG como IgM, tiene el mismo significado que la determinación de inmunocomplejos que contienen LDL y anticuerpos IgG o IgM que también circulan por el suero de los pacientes.

5. Por último, como mencionábamos anteriormente, hay que dilucidar si el significado clínico de los autoanticuerpos anti-LDLox es diferente en población con afección autoinmunitaria y en población general. Concretamente, en una enfermedad como el LES se han referido resultados dispares en el significado clínico de los anticuerpos frente a LDLox. Se especula que en el LES, se podrían formar complejos entre LDLox y beta 2-glucoproteína 1 (GP1) que serían captados con una enorme facilidad por el macrófago, y a la vez, este complejo resultaría inmunógeno, habiéndose demostrado la existencia de anticuerpos contra este complejo y que éstos pudieran tener relación con la génesis de la aterosclerosis en estas enfermedades^{47,48}.

La conclusión final de esta revisión sería, como en un editorial en *Circulation*⁴⁹, que es urgente y necesario aclarar si el significado clínico de los anticuerpos anti-LDL modificadas en la aterosclerosis está dentro de la patogénia o en la protección.

Bibliografía

- Braunwald E. Shattuck lecture-cardiovascular medicine at the turn of the millenium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med*. 1997;337:1360-9.
- Hamilton CA. Low-density lipoprotein and oxidised low-density lipoprotein: Their role in the development of atherosclerosis. *Pharmacol Ther*. 1997;74:55-72.
- Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*. 1994;344:793-5.
- Yla-Herttuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, et al. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest*. 1989;84:1086-95.
- Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest*. 1991;88:1785-92.
- Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SS, Butler SW, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86:1372-6.
- Mironova MA, Klein RL, Virella GT, Lopes-Virella MF. Anti-modified LDL antibodies, LDL-containing immune complexes, and susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2000;49:1033-41.
- De Graff J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demarker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:298-306.
- Wu R, Nityanand S, Berglund L, Lithell H, Holm G, Lefvert AK. Antibodies against cardiolipin and oxidatively modified LDL in 50-year-old men predict myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:3159-63.
- Romero FI, Atsumi T, Tinahones FJ, Gómez-Zumaquero JM, Khamashta MA, Hughes GVR. Autoantibodies against oxidized lipoprotein(a) in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*. 1999;42:2606-11.
- Inoue T, Uchida T, Kamishirado H, Takayanagi K, Hayashi T, Morooka S. Clinical significance of antibody against oxidized low density lipoprotein in patients with atherosclerotic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:775-9.
- Puurunen M, Manttari M, Manninen V, Tenkanen L, Alftan G, Ehnholm C, et al. Antibody against oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch Intern Med*. 1994;154:2605-9.
- Lehtimäki T, Lehtinen S, Solakivi T, Nikkilä M, Jaakkola O, Jokela H, et al. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein in patients with angiographically verified coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:23-7.
- Bergmark C, Wu R, De Faire U, Lefvert AK, Swedenborg J. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:441-5.
- Salonen JT, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet*. 1992;339:883-7.
- George J, Harats D, Bakshi E, Adler Y, Levy Y, Gilburd B, et al. Anti-oxidized low density lipoprotein antibody determination as a predictor of restenosis following percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Immunol Lett*. 1999;68:263-6.
- Yla-Herttuala S, Palinski W, Butler SW, Picard S, Steinberg D, Witztum JL. Rabbit and human atherosclerotic lesions contain IgG that recognizes epitopes of oxidized LDL. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:32-40.
- Griffith RL, Virella GT, Stevenson HC, Lopes-Virella MF. Low density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low density lipoprotein immune complexes. *J Exp Med*. 1988;168:1041-59.
- Lopes-Virella MF, Binzafar N, Rackley S, Takei A, LaVia M, Virella G. The uptake of LDL-containing immune complexes by human macrophages: predominant involvement of the Fc[gamma]RI receptor. *Atherosclerosis*. 1997;135:161-70.
- Huang Y, Ghosh MJ, Lopes-Virella MF. Transcriptional and post-transcriptional regulation of LDL receptor gene expression in PMA-treated THP-1 cells by LDL-containing immune complexes. *J Lipid Res*. 1997;38:110-20.
- Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 1995;91:2844-50.
- Virella G, Munoz JF, Galbraith GM, Gissinger C, Chassereau CH, Lopes-Virella MF. Activation of human monocyte-derived macrophage by immune complexes containing low density lipoprotein. *Clin Immunol Immunopathol*. 1995;75:179-89.

23. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Interleukin 1 induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J Exp Med.* 1984;160:618-23.
24. Luscinskas FW, Brock AF, Arnaout MA, Grimbone MA. Endothelial-leukocyte adhesion molecule-1-dependent and leukocyte (CD11/CD18)-dependent mechanisms contribute to polymorphonuclear leukocyte adhesion to cytokine-activated human vascular endothelium. *J Immunol.* 1989;142:2257-63.
25. Raines EW, Dower SK, Ross R. Interleukin-1 mitogenic activity for fibroblasts and smooth muscle cells is due to PDGF-AA. *Science.* 1989;243:393-6.
26. Festa A, Kopp HP, Scherthaner G, Menzel EJ. Autoantibodies to oxidized low density lipoprotein in IDDM are inversely related to metabolism and microvascular complications. *Diabetologia.* 1998; 41:3:350-6.
27. Hulthe J, Wikstrand J, Lidell A, Wedelhaug I, Hansson GK, Wiklund O. Antibody titers against oxidized LDL are not elevated in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1203-11.
28. Craig WY, Poulin SE, Neveux LM, Palomaki GE, Dostal-Johnson DA, Ledue TB, et al. Anti-oxidized LDL antibodies and antiphospholipid antibodies in healthy subjects: Relationship with lipoprotein -and oxidation-related analytes. *J Autoimmun.* 1995;8: 713-26.
29. Tinahones FJ, Gómez-Zumaquero JM, Rojo-Martínez G, Cardona F, Esteve de Antonio I, Ruiz de Adana MS, et al. Increased levels of anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies are associated with reduced levels of cholesterol in the general population. *Metabolism.* 2002;51:429-31.
30. Ryan M, Owens D, Kilbride B, Collins P, Johnson A, Tomkin GH. Antibodies to oxidized lipoproteins and their relationship to myocardial infarction. *Q J Med.* 1998;91:411-5.
31. 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.
32. Karvonen J, Paivansalo M, Kesaniemi YA, Horkko S. Immunoglobulin M type of autoantibodies to oxidized low-density lipoprotein has an inverse relation to carotid artery atherosclerosis. *Circulation.* 2003;108:2107-12.
33. Ameli S, Hultgårdh-Nilsson A, Regnström J, Calara F, Yano J, Cercek B, et al. Effect of immunization with homologous LDL and oxidized LDL on early atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16:1074.
34. 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;21:108-14.
35. Palinski W, Miller E, Witztum JL. Immunization of low density lipoprotein (LDL) receptor-deficient rabbits with homologous malondialdehyde-modified LDL reduces atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:821-5.
36. George J, Afek A, Gilburd B, Levkovitz H, Shaish A, Goldberg I, et al. Hyperimmunization of apoE-deficient mice with homologous malondialdehyde low-density lipoprotein suppresses early atherogenesis. *Atherosclerosis.* 1998;138:147-52.
37. Hökkö S, Bird DA, Miller E, Itabe H, Leitinger N, Subbanagounder G, et al. Monoclonal autoantibodies specific for oxidized phospholipids or oxidized phospholipid-protein adducts inhibit macrophage uptake of oxidized low-density lipoproteins. *J Clin Invest.* 1999;103:117-128.
38. 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;21:1333-9.
39. Romero FI, Amengual O, Atsumi T, Khamashta MA, Tinahones FJ, Hughes GVR. Association of antibodies against b2-glycoprotein-I and antibodies against oxidized low density lipoprotein to arterial diseases in systemic lupus erythematosus. *Brit J Rheum.* 1998;37:883-8.
40. Aho K, Vaarala O, Tenkanen L, Julkunen H, Jouhikainen T, Alftan G, et al. Antibodies binding to anionic phospholipids but not to oxidized low-density lipoprotein are associated with thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 1996;14:499-506.
41. Amengual O, Atsumi T, Khamashta MA, Tinahones F, Cuadrado MJ, Hughes GRV. Antibodies against oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) in 107 patients with antiphospholipid syndrome (APS). *Arthritis Rheum.* 1996;36:964-8.
42. Cuadrado MJ, Tinahones F, Camps MT, De Ramón E, Gómez-Zumaquero JM, Mujic F, et al. Antiphospholipid, anti-b2-glycoprotein-I and anti-oxidized-low-density-lipoprotein antibodies in antiphospholipid syndrome. *Q J Med.* 1998;91:619-26.
43. Herrick AL, Illingworth KJ, Hollis S, Gómez-Zumaquero JM, Tinahones FJ. Antibodies against oxidized low density lipoproteins in systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2001;40:401-5.
44. Gómez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, De Ramón E, Camps M, Garrido L, Soriguer FJ. Association of biological markers of activity of systemic lupus erythematosus with levels of anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43:510-3.
45. Zaratín A, Gidlund M, Boschcov P, Castilho L, Cotta de Faria E. Antibodies against oxidized low-density lipoprotein in normolipidemic smokers. *Am J Cardiol.* 2002;90:651-3.
46. Binder CJ, Horkko S, Dewan A, Chang MK, Kieu EP, Goodyear CS, et al. Pneumococcal vaccination decreases atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between *Streptococcus pneumoniae* and oxidized LDL. *Nat Med.* 2003;9:736-43.
47. Kobayashi K, Matsuura E, Liu Q, Furukawa J, Kaihara K, Inagaki J, et al. A specific ligand for b2-glycoprotein-I mediates autoantibody-dependent uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages. *J Lipid Res.* 2001;42:697-709.
48. Liu Q, Kobayashi K, Furukawa J, Inagaki J, Sakairi N, Iwado A, et al. Omega carboxyl variants of 7 ketocholesteryl esters are ligands for b2-glycoprotein-I and mediate antibody-dependent uptake of oxidized by macrophages. *J Lipids Res.* 2002;43:1486-95.
49. Shoenfeld Y, Wu R, Dearing LD, Matsuura E. Are anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies pathogenic or protective? *Circulation.* 2004;110:2552-8.