

Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular

Hospital Clínicoquirúrgico “Hermanos Ameijeiras”

## Respuesta autoinmune sistémica en pacientes con aterosclerosis coronaria

[Dra. Flor de la C. Heres Álvarez,<sup>1</sup>](#) [Dra. Elena Kokuina,<sup>2</sup>](#) [Lic. María Beatriz Cabalé Vilariño,<sup>3</sup>](#) [Lic. Josanne Soto,<sup>4</sup>](#) [Dr. Omar González Greck,<sup>5</sup>](#) [Dr. Luis Roberto Llerena<sup>6</sup>](#) y [Dr. Lorenzo Llerena<sup>7</sup>](#)

### Resumen

Se ha sugerido la existencia de un papel de la autoinmunidad en la aterosclerosis. Se realizó este trabajo para determinar si una respuesta autoinmune sistémica, caracterizada por la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA), factor reumatoideo (FR) y alteraciones de las inmunoglobulinas séricas (Igs) está asociada con la aterosclerosis coronaria. Se estudió el suero de 2 grupos de pacientes; 41 sujetos con al menos 50 % de estenosis en las 3 arterias coronarias principales (EAC) y 26 sujetos sin evidencia de lesiones coronarias (NEAC) determinada mediante angiografía coronaria. Se determinaron los ANA mediante inmunofluorescencia en secciones criostáticas de hígado de rata; el FR por fijación en látex y la cuantificación de IgG, IgA e IgM por inmunoturbidimetría. Se halló que la frecuencia de autoanticuerpos detectados en el grupo EAC resultó muy similar a la del grupo NEAC (ANA: 17 % vs. 15 %,  $p = 0,856$ ; FR: 7 % vs. 4 %,  $p = 0,559$ ). Se comprobó que las diferencias de los valores promedio de las inmunoglobulinas séricas entre ambos grupos de pacientes no fueron estadísticamente significativas (IgG: 12,4 g/L vs. 13,0 g/L; IgA: 3,6 g/L vs. 3,6 g/L; IgM: 1,2 g/L vs. 1,4 g/L;  $p = 0,328$ ,  $p = 0,946$ ,  $p = 0,157$ , respectivamente). Se concluyó que según los resultados, la presencia de ANA, FR y concentraciones anormales de Igs séricas carecen de utilidad para identificar sujetos con aterosclerosis avanzada.

**Palabras clave:** Autoinmunidad, anticuerpos antinucleares, enfermedad cardíaca coronaria, aterosclerosis.

La aterosclerosis es un proceso histopatológico de origen multifactorial. En los últimos años existe una creciente evidencia de que la inflamación desempeña un papel fundamental en su patogenia, basado en que las respuestas moleculares y celulares altamente específicas de enfermedades inflamatorias están

presentes en las lesiones ateroscleróticas.<sup>1,2</sup> Existen datos que confirman que los cambios ateroscleróticos inflamatorios tempranos son disparados por una reacción inmune humoral y celular.<sup>3,4</sup> Más recientemente, se ha sugerido un papel causal de la autoinmunidad en la iniciación y progresión de este proceso.<sup>5-7</sup>

Las teorías que postulan la relación de los autoanticuerpos e inmunocomplejos con la aterosclerosis han tenido un considerable apoyo experimental.<sup>8,9</sup> En la clínica, varios autoanticuerpos han sido estudiados como factores en la aterogénesis. Se ha reportado una asociación entre enfermedad de arterias coronarias y autoanticuerpos dirigidos contra las proteínas de choque térmico (HSP: del inglés),<sup>10</sup> fosfolípidos,<sup>11,12</sup>  $\beta$ 2 glicoproteína I,<sup>12</sup> lipoproteína de baja densidad oxidada (oxLDL: del inglés)<sup>12,13</sup> y anticuerpos antinucleares (ANA).<sup>14</sup> Algunos autores han reportado una asociación entre la presencia de ANA y enfermedad de las arterias coronarias definida angiográficamente, por lo que consideran los ANA un indicador de riesgo potencial de enfermedad cardíaca coronaria.<sup>14</sup>

El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe asociación entre una reacción autoinmune sistémica, caracterizada por la presencia de anticuerpos antinucleares, factor reumatoide (FR) y alteraciones en los niveles de inmunoglobulinas séricas (Igs) y la aterosclerosis coronaria diagnosticada angiográficamente.

## Métodos

Se realizó un estudio prospectivo-descriptivo en 67 pacientes atendidos en el Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular con el diagnóstico clínico de cardiopatía isquémica, 41 de los cuales presentaban enfermedad significativa de arterias coronarias (definida como la reducción de más del 50 % del diámetro intraluminal) de las 3 arterias epicárdicas mayores: coronaria derecha, descendente anterior y circunfleja: (grupo EAC) y 26 pacientes sin evidencia de lesiones ateroscleróticas (grupo NEAC), demostrado por angiografía coronaria.

Como criterios de exclusión se consideraron los siguientes: angina inestable de menos de un mes de aparición, infarto agudo del miocardio en los 3 meses anteriores, enfermedad coronaria de 1 o 2 vasos, enfermedad valvular o hipertrofia ventricular en los pacientes sin lesiones coronarias, así como la presencia de enfermedad autoinmune en los pacientes o familiares de primer grado.

Las determinaciones de ANA, FR e Igs se realizaron en muestras de suero, obtenidos a partir de sangre venosa periférica extraída previamente a la realización de la coronariografía, las que fueron fraccionadas y conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. La detección de ANA se realizó por el método de inmunofluorescencia indirecta sobre cortes de criostato de hígado de rata. Los resultados positivos se clasificaron según la intensidad de fluorescencia en la escala de 4 grados; se identificó además el patrón de fluorescencia nuclear,<sup>15</sup> la determinación del FR se realizó por el método de aglutinación en partículas de látex sensibilizadas con IgG humana. Se consideraron como positivos los sueros diluidos 1:20 en solución salina al 0,9 % que aglutinaron las partículas de látex (Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay", Habana). La cuantificación de IgG, IgA e IgM séricas fue determinada

por inmunturbidimetría en un analizador automático (*Roche Diagnostcis, Mannheim*).

### Análisis estadístico

La comparación entre los grupos EAC y NEAC fue calculada mediante el *test* de  $X^2$  para variables categóricas y la prueba t - Student para las no categóricas. En todos los casos se tomó la  $p < 0,05$  para indicar diferencias estadísticamente significativas.

### Resultados

Se encontraron diferencias significativas en los indicadores demográficos, clínicos y concentraciones lipídicas entre los pacientes con EAC y NEAC (tabla 1).

**Tabla 1.** Características demográficas y clínicas de pacientes con lesiones coronarias y sin lesiones coronarias

Indicador	EAC (n= 41)	NEAC (n=26)	p
Edad (años)	57± 7,2	52 ± 13	0,037
Sexo (Hombre/Mujer)	36/5	15/11	0,012
Colesterol total (mmol/L)	5,96	5,36	0,038
Colesterol LDL (mmol/L)	3,95	3,51	0,095
Colesterol HDL (mmol/L)	0,83	1,08	<0,001
Colesterol VLDL (mmol/L)	0,73	1,10	<0,001
Triglicéridos (mmol/L)	2,94	1,76	<0,001
Fumadores (n (%))	10 (24)	6 (23)	0,864
Exfumadores (n (%))	21 (51)	5 (19)	0,018
IMA previo (n (%))	19 (46)	6 (23)	0,047

EAC: Con lesiones coronarias. NEAC: Sin lesiones coronarias. IMA: Infarto agudo del miocardio.

Nota: La edad y cifras del perfil lipídico son expresadas como valores medios.

Se detectó la presencia de ANA y FR en los pacientes con EAC y NEAC. La distribución de los resultados positivos de ANA y FR no presentó diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes (tabla 2). Los patrones de fluorescencia de los ANA positivos fueron difusos y granular de intensidad de fluorescencia débil.<sup>1,2,4</sup>

**Tabla 2.** Indicadores inmunológicos séricos de pacientes con lesiones coronarias y sin ellas

Indicador	EAC (n=41)	NEAC (n=26)	p
ANA (n (%))	7 (17)	4 (15)	0,856
FR n (%)	3 (7)	1 (4)	0,559
IgG (g/L)	12,38	13,05	0,328
IgA (g/L)	3,59	3,57	0,946
IgM (g/L)	1,17	1,42	0,157

EAC: Con lesiones coronarias. NEAC: Sin lesiones coronarias. ANA: Anticuerpos antinucleares. FR: Factor reumatoideo. Ig: Inmunoglobulinas.

Nota: Las cifras de inmunoglobulinas son expresadas como valores medios.

Los niveles medios de las inmunoglobulinas séricas IgG, IgA, e IgM no mostraron diferencias significativas entre los pacientes con EAC y NEAC (tabla 2).

Los niveles medios de colesterol total, triglicéridos, LDL colesterol, HDL colesterol y VLDL colesterol no presentaron diferencias significativas entre los pacientes con resultados positivos y negativos de ANA ni de FR (tabla 3). Tampoco se encontró correlación estadística entre los niveles de colesterol total, triglicéridos, LDL colesterol, HDL colesterol y VLDL colesterol y los niveles de las inmunoglobulinas séricas IgG, IgA, e IgM (rango de coeficientes de correlación de Pearson : 0,010 – 0,234).

**Tabla 3.** Concentraciones lipídicas en relación con la presencia de ANA y FR en 67 pacientes con lesiones coronarias y sin ellas

Indicador	ANA positivo	ANA negativo	p	FR positivo	FR negativo	p
Colesterol total	6,04	5,67	0,339	5,63	5,73	0,856
LDL-colesterol	3,72	3,78	0,883	3,67	3,73	0,858
HDL-colesterol	0,99	0,91	0,421	0,93	0,93	0,994
VLDL-colesterol	1,19	0,90	0,068	0,77	0,95	0,481
Triglicéridos	3,13	2,36	0,099	3,18	2,44	0,317

ANA: Anticuerpos antinucleares. FR: Factor reumatoideo.

Nota: Las cifras del perfil lipídico son expresadas como valores medios.

## Discusión

En nuestro estudio no se encontró asociación de marcadores inmunológicos séricos como los ANA, FR y niveles de inmunoglobulinas con la enfermedad coronaria demostrada angiográficamente.

Los factores de riesgo tradicionales de la aterosclerosis explican solo una parte de sus manifestaciones clínicas y epidemiológicas. Los nuevos conceptos relacionados con la patogenia de esta enfermedad, donde la inflamación generada por un mecanismo inmunológico se considera determinante, han permitido considerar que un proceso autoinmune esté involucrado en su inicio y perpetuación.<sup>5,6</sup> Varios estudios han documentado que células de la respuesta inmune particularmente macrófagos y células T activadas, reclutadas por moléculas de adhesión leucocitarias y factores quimiotácticos, las cuales producen citocinas proinflamatorias; están presentes en las lesiones ateroscleróticas.<sup>3,4</sup> Las células T procedentes de las placas humanas reconocen proteínas de choque térmico,<sup>10</sup> fosfolípidos<sup>11</sup> y oxLDL.<sup>16</sup> Se ha comprobado la presencia de anticuerpos con estas especificidades en la circulación de pacientes con aterosclerosis avanzada.<sup>10-13</sup>

La presencia de una aterosclerosis precoz en pacientes con enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoidea y el lupus eritematoso sistémico, este último considerado un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular aterosclerótica,<sup>17</sup> han conducido a valorar a los autoanticuerpos que caracterizan estas enfermedades autoinmunes, fundamentalmente los ANA, como marcadores de

aterosclerosis avanzada. *Grainger*<sup>14</sup> encontró una mayor incidencia de ANA en los pacientes con aterosclerosis coronaria definida por angiografía respecto a los pacientes sin lesiones ateroscleróticas en coronarias (70 vs. 17 %). Estos autores concluyeron que la presencia de los ANA está asociada con la aterosclerosis coronaria y que la determinación de estos autoanticuerpos podría ser útil como una prueba diagnóstica no invasiva adicional para identificar personas con riesgo de enfermedad coronaria en la población. La presencia de los ANA en la circulación podría contribuir al desarrollo de la aterosclerosis por potenciar la respuesta inflamatoria local en los sitios de la deposición lipídica en la pared vascular.<sup>14</sup> Otros investigadores no han podido demostrar la importancia de los ANA y otros autoanticuerpos sistémicos en la enfermedad cardíaca coronaria.<sup>18-20</sup> Estudios en pacientes con LES y aterosclerosis acelerada<sup>21-23</sup> y en pacientes con enfermedad arterial oclusiva periférica<sup>24</sup> tampoco han demostrado una mayor prevalencia de los ANA y otros autoanticuerpos sistémicos en la enfermedad aterosclerótica.

En nuestro estudio, la presencia de ANA y FR fue similar en los pacientes con lesiones ateroscleróticas en 3 arterias coronarias y sin lesiones ateroscleróticas diagnosticadas angiográficamente. Las diferencias en el grupo de estudio y el sustrato nuclear utilizado para determinar los ANA pudieran explicar, en parte, las diferencias encontradas entre los diferentes autores. La frecuencia de ANA en estos pacientes resultó superior a la de la población sana (4 %),<sup>15</sup> lo cual puede ser atribuido a la edad avanzada, proporción elevada de fumadores y de pacientes con infarto de miocardio previo en la muestra estudiada. La ausencia de relación entre los ANA y la enfermedad cardiovascular aterosclerótica demostrada en nuestro estudio está apoyada por la ausencia de otras manifestaciones de la respuesta autoinmune sistémica como el FR y las concentraciones elevadas de las Igs séricas en pacientes con esta afección.

El consenso de la literatura actual señala que entre las distintas especificidades de autoanticuerpos encontradas en la aterosclerosis son los antifosfolípidos y los anti-oxLDL los que más se han relacionado con las lesiones ateroscleróticas.<sup>11,13,16</sup> Estudios recientes han propuesto paradójicamente un posible papel protector de estos autoanticuerpos en la aterosclerosis sobre la base de que la inducción de estas especificidades por la inmunización con moléculas de oxLDL redujo la formación de placas de ateroma en animales de experimentación.<sup>25</sup>

Nuestros resultados indican que las múltiples especificidades de autoanticuerpos, que se asocian con las lesiones ateroscleróticas no incluyen los ANA, ni el FR. Las posibles alteraciones en la respuesta inmune humoral en pacientes con lesiones ateroscleróticas no han sido reflejadas por los cambios en las concentraciones séricas de las Igs. Queda por definir el papel que desempeñan otros autoanticuerpos en la patogénesis de la aterosclerosis con el objetivo de explotar la respuesta inmune para la terapia o profilaxis de la enfermedad vascular aterosclerótica.

## Summary

### Systemic autoimmune response in patients with coronary atherosclerosis

It has been suggested that autoimmunity plays a role in atherosclerosis. The aim of this paper was to determine whether a systemic autoimmune response, characterized by the presence of antinuclear antibodies (ANA), rheumatoid factor (RF) and alterations of serum immunoglobulins (Igs), is associated with coronary atherosclerosis. The serum of 2 groups of patients was studied; 41 subjects with at least 50 % of stenosis in the 3 main coronary arteries (SCA) and 26 subjects with no evidence of coronary injuries (NECI) determined by coronary angiography. The antinuclear antibodies were determined by immunofluorescence in cryostatic sections of rat liver; the rheumatic factor by fixation in latex and the quantification of IgG, IgA and IgM by immunoturbidimetry. It was found that the frequency of autoantibodies detected in the SCA group proved to be similar to that of the NECAI group (ANA: 17 % vs. 15 %,  $p = 0,856$ ; RF: 7 % vs. 4 %,  $p = 0,559$ ). It was shown that the differences of the mean values of serum immunoglobulins between both groups of patients were not statistically significant (IgG: 12,4 g/L vs. 13,0 g/L; IgA: 3,6 g/L vs. 3,6 g/L; IgM: 1,2 g/L vs. 1,4 g/L;  $p = 0,328$ ,  $p=0,946$ ,  $p= 0.157$ , respectively). According to the results, it was concluded that the presence of ANA, RF and abnormal concentrations of serum Igs were not useful to identify individuals with advanced atherosclerosis.

**Key words:** Autoimmunity, antinuclear antibodies, coronary heart disease, atherosclerosis.

## Referencias bibliográficas

1. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Eng J Med* 1999;340:115-26.
2. Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Toutouzas P, Ambrose JA. Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart* 2003;89:993-7.
3. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(12):1876.
4. Getz GS. Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Immune function in atherogenesis. *J Lipid Res* 2005;46:1-10.
5. Ludewig B, Krebs P, Scandella E. Immunopathogenesis of atherosclerosis. *J Leukoc Biol* 2004;76:300-6.
6. Shoenfeld Y, Sherer Y, Harats D. Atherosclerosis as an infectious, inflammatory and autoimmune disease. *Trends Immunol* 2001;22:293-5.
7. Wick G, Perschinka H, Millonig G. Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update. *Trend Immunol* 2001;22(12):665-9.
8. Kleindienst R, Schett G, Amberger A. Atherosclerosis as an autoimmune condition. *Isr J Med Sci* 1995;31(10):596-9.
9. Sherer Y, Shoenfeld Y. Atherosclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002;61 (2):97-9.
10. Xu Q. Role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 2002;22(10):1547-59.
11. Nicolo D, Monestier M. Antiphospholipid antibodies and atherosclerosis. *Clin Immunol* 2004;112:56-60.
12. Sherer Y, Tenenbaum A, Praprotnik S, Shemesh J, Blank M, Fisman EZ et al. Coronary artery disease but not coronary calcification is associated with elevated levels of Cardiolipin, Beta-2-

- Glycoprotein-1, and Oxidized LDL Antibodies. *Gener Cardiol* 2001;95(1):20-4.
13. Lehtimaki T, Lehtinen S, Solakivi T, Nikkila 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.
  14. Grainger DJ, Bethel HWL. High titres of serum antinuclear antibodies, mostly directed against nucleolar antigens, are associated with the presence of coronary atherosclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002;61:110-4.
  15. Kokuina E, Pérez E, Valdés E, Castell C. Evaluación de dos métodos de pesquiasaje de anticuerpos antinucleares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1992;8:42-9.
  16. Stemme S, Faber B, Hule J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes form human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci* 2003;92:3893-7.
  17. Manzi S. Inflammation-mediated rheumatic disease and atherosclerosis. *Ann Rheum Dis* 2000;59:321-5.
  18. Potocka-Plazak K, Pituch-Noworolska A, Kocemba J. Prevalence of autoantibodies in the very elderly: association with symptoms of ischemic heart disease. *Aging* 1995; 74(4):218-20.
  19. Fiorito S, Magrini L. Autoimmune features in atherosclerosis ischemic cardiomyopathy. *Allerg Immunol* 1992;24 (9):336-41.
  20. Brusca I, Sarullo FM, Fazio M. Presence of antinuclear antibodies and coronary heart disease. *Ann Rheum Dis* 2002;61:1038.
  21. Marasini B, De Monti M, Ghilardi G. Risk factors for accelerated atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64:163-4.
  22. Roman MJ, Shanker BE, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003;349:2399-406.
  23. Manger K, Kusus M, Forster C, Ropers D, Daniel WG, Kalden JR, et al. Factors associated with coronary artery calcification in young female patients with SLE. *Ann Rheum Dis* 2003;62:846-50.
  24. Kroeger K, Mouradi H, Kreuzfelder E, Rudofsky G, Grosse-Wilde H. Antinuclear and antiphospholipid autoantibodies in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Ann Rheum Dis* 2005;64:333-4.
  25. Freigang S, Horkko S, Miller E, Witztum JL, Palinski W. Immunization of LDL receptor-deficient mice with homologous malondialdehyde-modified and native LDL reduces progression of atherosclerosis by mechanisms other than induction of high titers of antibodies to oxidative neopeptides. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18: 1972-82.

Recibido: 22 de marzo de 2005. Aprobado: 12 de abril de 2005.

Dra. *Flor de la C. Heres Álvarez*. Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, calle 17 esquina A, el Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>1</sup>[Especialista de I Grado en Inmunología. Departamento de Inmunología. Instituto de Cardiología.](#)

<sup>2</sup>[Especialista de II Grado en Inmunología. Profesora Auxiliar. Departamento de Inmunología. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras."](#)



<sup>3</sup>Licenciada en Biología. Aspirante a Investigadora. Departamento de Bioquímica. . Instituto de Cardiología.

<sup>4</sup>Especialista de I Grado en Laboratorio Clínico. Instructora. Departamento de Bioquímica. Hospital Clínicoquirúrgico “Hermanos Ameijeiras.”

<sup>5</sup>Especialista de I Grado en Medicina Interna. Profesor Auxiliar. Instituto de Cardiología.

<sup>6</sup>Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Radiología. Profesor Consultante. Departamento de Radiología. Instituto de Cardiología.

<sup>7</sup>Especialista de II Grado en Cardiología. Profesor Auxiliar. Departamento de Hemodinamia. Instituto de Cardiología.

---