

Komplex oxLDL/ β 2-glykoprotein I jako proaterogenní autoantigen. Je ateroskleróza autoimunitní onemocnění?

Pavel Kraml

Centrum pro výzkum diabetu, metabolismu a výživy II. interní kliniky 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

Souhrn

Oxidace aterogenních lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) hraje jednu ze zásadních rolí v patogenezi aterosklerózy. Oxidační stres a zánět spolu úzce souvisejí a vzájemně se potencují. V subendotelovém prostoru arteriální intimy přitom dochází k aktivaci monocytů/makrofágů, které svými scavengerovými receptory internalizují oxidované LDL (oxLDL). Ukázalo se však, že oxLDL vytváří komplex s plazmatickým β 2-glykoproteinem I (β 2GPI) a stává se autoantigenem spouštějícím tvorbu specifických antifosfolipidových protilátek. Bylo prokázáno, že komplex oxLDL/ β 2GPI je pak ve vazbě s IgG protilátkou jako imunokomplex vychytáván makrofágy přes Fc γ receptor. Zvýšené hladiny oxLDL/ β 2GPI byly nejprve popsány u pacientů se systémovým lupus erythematoses (SLE) a antifosfolipidovým syndromem (APS), dále pak u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (ICHS) a diabetem 2. typu (DM2T). U pacientů s chronickou formou ICHS pak iniciační hodnoty koncentrace oxLDL/ β 2GPI v plazmě korelovaly s počtem a závažností kardiovaskulárních příhod.

Klíčová slova: ateroskleróza – β 2-glykoprotein I – oxidační stres – oxLDL – zánět

OxLDL/ β 2-glycoprotein I complex as a pro-atherogenic autoantigen. Is atherosclerosis an autoimmune disease?

Summary

Oxidation of atherogenic low-density lipoproteins (LDL) plays a key role in the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidation stress and inflammation are closely interrelated and they can potentiate one another. In the subendothelial space of the arterial intima, monocytes/macrophages become activated and phagocyte oxidized LDL (oxLDL) via scavenger receptors. It has been demonstrated that oxLDL forms complex with plasma β 2-glycoprotein I (β 2GPI) and becomes autoantigenic triggering synthesis of specific antiphospholipid antibodies. It has been documented that oxLDL/ β 2GPI in immune complex with IgG autoantibody is internalized by macrophages through the Fc γ receptor. Increased levels of oxLDL/ β 2GPI were first observed in patients with systemic lupus erythematoses (SLE) and antiphospholipid syndrome (APS), further in individuals with coronary heart disease (CHD) and type 2 diabetes mellitus (DM2T). In a prospective study, initial plasma concentrations of oxLDL/ β 2GPI correlated with the number and severity of cardiovascular events in patients with chronic CHD over a 2-year period.

Key words: atherosclerosis – β 2-glycoprotein I – inflammation – oxidative stress – oxLDL

Ateroskleróza je chronický inflamatorní proces, při kterém oxidační stres sehraává jednu z klíčových rolí. Oxidační stres a zánět obecně spolu úzce souvisejí, vzájemně se doprovázejí na řadě úrovní a bylo prokázáno, že se mohou i navzájem indukovat. Inflamatorní buňky produkují volné radikály (např. v dýchacím řetězci neutrofilů) a naopak reaktivní formy kyslíku a dusíku se uplatňují jako signální molekuly, které spouští zánětlivou odpověď v tkáních [1,2].

Při iniciaci a progresi ateromového plátu se významně uplatňuje oxidační modifikace aterogenních lipoproteinů, zejména lipoproteinů o nízké hustotě

(LDL). Je známá skutečnost, že čím menší je částice LDL, tím více je náchylná k oxidaci, a tvorba těchto malých, denzních LDL je typická např. pro jedince s inzulinovou rezistencí a diabetem 2. typu. V subendotelovém prostoru arteriální intimy jsou oxidované LDL (oxLDL) rychle vychytávány makrofágy vazbou na tzv. scavengerové receptory (např. CD36, SRA, SRB-I či LOX) [3], dochází k ukládání cholesterolového esteru a makrofágy se tak přeměňují v pěnitě buňky. Zatímco vychytávání nativních LDL cestou LDL receptorů podobně jako v každé somatické buňce podléhá negativní zpětné

vazbě v závislosti na množství intracelulárního cholesterolu, není exprese scavengerových receptorů a vazba oxLDL zpětnovazebně regulována [4,5]. Zdá se však, že oxLDL může být absorbován makrofágem ještě dalším mechanismem.

Hasunuma et al prokázali [6], že oxLDL tvoří komplexy s plazmatickým β 2-glykoproteinem I (β 2GPI) ze skupiny tzv. komplement kontrolujících proteinů – CCP. Funkce tohoto proteinu, původně nesprávně nazývaného apo-protein H, byla dlouho nejasná, dnes se však ví, že je významným faktorem vrozené imunity a že ve fyziologii lipoproteinů nehraje primární žádnou roli. β 2GPI se skládá z 326 aminokyselin strukturovaných do 5 domén. 4 domény mají stejné sekvence aminokyselin, zatímco doména V obsahuje 6 reziduálních inzercí. Tyto přídatné aminokyseliny v doméně V tvoří pozitivně nabitý epitop, který je zodpovědný za vazbu záporně nabitých fosfolipidů [7,8]. Elektronmikroskopické zobrazení dále odhalilo, že β 2GPI existuje ve dvou konformacích. V plazmě se β 2GPI nachází v cirkulární konformaci, přičemž konec domény I se dotýká konce domény V. Po interakci s anionovým povrchem fosfolipidů dochází k rozevření β 2GPI do tvaru písmene J, čímž se obnaží oblast β 2GPI schopná vazby na protilátky (obr. 1) [9].

Histochemickými metodami byla prokázána přítomnost β 2GPI v humánních ateromových plátech, z čehož lze usuzovat na jeho význam v patofyziologii aterosklerózy [10]. Kobayashi et al v in vitro experimentu demonstrovali, že β 2GPI váže kovalentní vazbou oxLDL a tvoří s ním stabilní, nedisociovatelný komplex (oxLDL/ β 2GPI) [11]. Na zvířecím modelu i u člověka pak byla prokázána kolokalizace oxLDL/ β 2GPI s imunoreaktivními lymfocyty a imunoglobuliny v ateromových lézích [12]. U pacientů s autoimunitním onemocněním, jako je systémový lupus erythematosus nebo antifosfolipidový syndrom, indu-

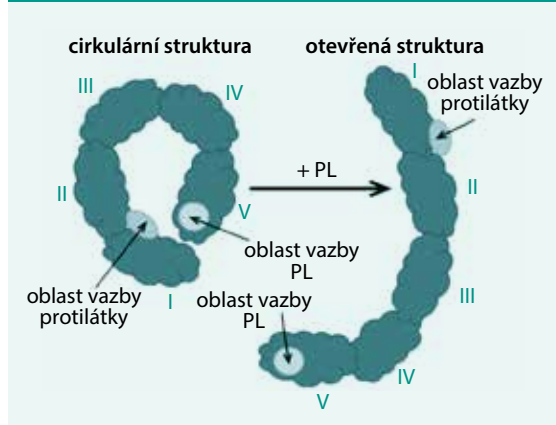
kuje komplex oxLDL/ β 2GPI tvorbu specifických antifosfolipidových protilátek. Na myším modelu Kajiwara et al demonstrovali, že oxLDL/ β 2GPI navázané v imunokomplexu na IgG jsou fagocytovány makrofágy nejspíše přes Fc γ receptor [13]. Naproti tomu protilátky anti oxLDL/ β 2GP třídy IgM se v experimentu zdají mít inhibiční vliv na fagocytózu oxLDL/ β 2GP makrofágem (obr. 2, obr. 3) [14].

Jak již bylo řečeno, fosfolipidy vázané na β 2GPI slouží jako autoantigen, který spouští tvorbu antifosfolipidových protilátek, které hrají významnou roli v patogenezi trombotických komplikací. Výsledky řady studií prokázaly, že antifosfolipidové protilátky up-regulují expresi tkáňového faktoru (tissue factor – TF) [15] ve tkáních a dále mají přímý inhibiční efekt na plazmatický antikoagulační protein C [16–18]. Přítomností oxLDL/ β 2GPI v plazmě pacientů s autoimunitním onemocněním se pak někteří autoři snaží vysvětlit zvýšené riziko kardiovaskulárních i tromboembolických příhod u těchto jedinců.

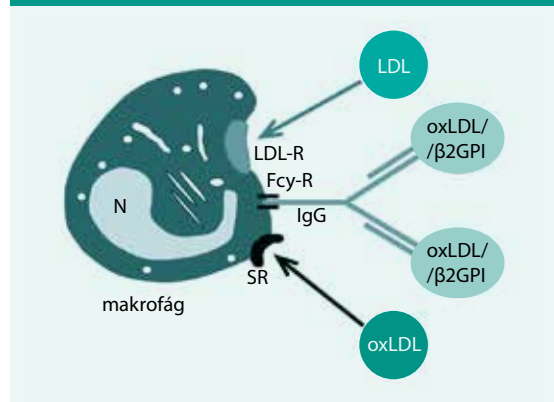
Obecně se má za to, že k oxidativní modifikaci LDL dochází v arteriální stěně (intimě) a že některé oxLDL unikají zpět do cirkulace. OxLDL mají významné proin-

Obr. 1. Struktura β 2-glykoproteinu I.

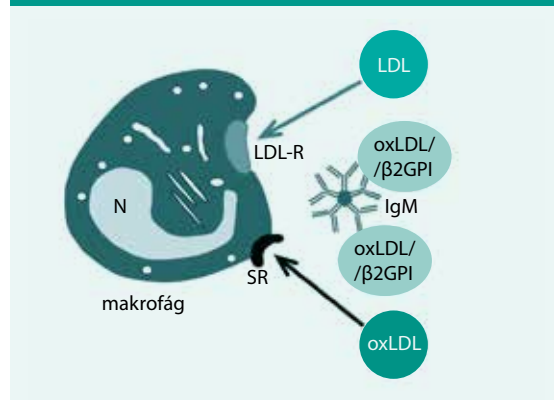
Po navázání anionové skupiny fosfolipidu (PL) na pozitivně nabitý epitop domény V se cirkulární struktura rozevře a obnaží se oblast determinovaná k vazbě protilátky. Upraveno podle [9]



Obr. 2. Internalizace oxLDL/ β 2GPI v imunokomplexu s IgG. Upraveno podle [14]



Obr. 3. Imunokomplex oxLDL/ β 2GPI s IgM není internalizován. Upraveno podle [14]



flamatorní a imunogenní vlastnosti. Protilátky proti oxidovaným LDL byly zvýšeny u pacientů s časnou manifestací koronární aterosklerózy (angiograficky verifikované) jakož i předčasné aterosklerózy periferních tepen. Řada prací dále potvrdila, že β 2GPI jsou hlavním antigenem antifosfolipidových protilátek a že oxLDL/ β 2GPI představují proaterogenní autoantigen, který se může uplatňovat při vzniku a nárůstu ateromového plátu a pravděpodobně zvyšovat i riziko jeho ruptury. Tuto domněnku podporují nálezy β 2GPI v blízkosti $CD4^+$ lymfocytů a buněk monocyto/makrofágové řady v lidských ateromech i výsledky [10] in vitro studií prokazující zvýšenou a zrychlenou internalizaci oxLDL v přítomnosti anti- β 2GPI protilátek [19,20]. Greco et al se ve své klinické studii snažili zjistit vztah mezi hladinami cirkulujících oxLDL/ β 2GPI a akutními koronárními příhodami. Zjistilo se, že ve srovnání s jedinci s intaktními koronárními arteriemi měli pacienti s ischemickou chorobou srdeční (ICHS) významně vyšší koncentrace oxLDL/ β 2GPI v plazmě ($3,75 \pm 6,31$ U/ml vs $2,21 \pm 3,03$ U/ml; $p = 0,0026$). U pacientů s těžkou formou ICHS byly průměrné hladiny oxLDL/ β 2GPI ještě vyšší ($8,71 \pm 12,87$ U/ml). Při rozdělení skupiny pacientů s ICHS do kvartilů podle koncentrace oxLDL/ β 2GP měli jedinci ve 4. kvartilu 3,5krát vyšší relativní riziko závažných kardiovaskulárních komplikací než pacienti 1. kvartilu po dobu 2letého sledování [21]. Výsledky jiné studie navíc demonstrovaly, že rosuvastatin podávaný diabetikům signifikantně snížil hladiny oxLDL/ β 2GPI, a to mechanismem, který je pravděpodobně nezávislý na snižování LDL, ale spíše inhibičním vlivem rosuvastatinu na oxidační účinky metabolitů NO [22]. Lopez et al pak prokázali signifikantně vyšší koncentrace oxLDL/ β 2GPI u pacientů s diabetem 2. typu ve srovnání se zdravými jedinci kontrolního souboru, což se zdá být odrazem vyššího oxidačního stresu a oxidační modifikace LDL, a oxLDL/ β 2GPI tak mohou přispívat ke zvýšenému kardiovaskulárnímu riziku u pacientů s diabetem 2. typu [23]. My sami jsme zdokumentovali, že muži středního věku s abdominální obezitou (použito bylo kritérium abdominální obezity na základě obvodu pasu podle International Diabetes Federation > 94 cm), avšak bez přítomnosti diabetu, měli významně vyšší plazmatické koncentrace oxLDL/ β 2GPI než štíhlí muži kontrolního souboru. V této kohortě koreloval oxLDL/ β 2GPI významně s HOMA-IR, koncentrací triacylglycerolů, celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu, apoB, Lp(a), feritinem, BMI, WHR, STK a DTK a negativně s HDL-cholesterolem a hladinou adiponektinu. Dále pak oxLDL/ β 2GP významně koreloval s jedním z nejvýznamnějších proinflammatorních adipokinů – PAI-I [24].

Měření plazmatických koncentrací oxLDL/ β 2GPI nepatří toho času mezi rutinní laboratorní vyšetření a doposud bylo využíváno zejména v experimentu. V klinické praxi bude potřeba vyčkat na výsledky dalších prospektivních studií, které by potvrdily význam tohoto komplexu v predikci kardiovaskulárních komplikací u osob s vysokým kardiovaskulárním rizikem, zejména v sekundární prevenci, u pacientů s diabetem či s autoimunitním onemocněním.

Literatura

- Anderson MT, Staal FJ, Gitler C et al. Separation of oxidant-initiated and redox-regulated steps in the NF- κ B signal transduction pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(24): 11527–11531.
- Flohé L, Brigelius-Flohé R, Saliou C et al. Redox regulation of NF- κ B activation. *Free Radic Biol Med* 1997; 22(6): 1115–1126.
- Murphy JE, Tedbury PR, Homer-Vanniasinkam S et al. Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. *Atherosclerosis* 2005; 182(1): 1–15.
- Brown MS, Goldstein JL. A Receptor-Mediated Pathway for Cholesterol Homeostasis. *Science* 1986; 232(4746): 34–47.
- de Villiers WJ, Smart EJ. Macrophage scavenger receptors and foam cells formation. *J Leukoc Biol* 1999; 66(5): 740–746.
- Hasunuma Y, Matsuura E, Makita Z et al. Involvement of beta 2-glycoprotein I and anticardiolipin antibodies in oxidatively modified low-density lipoprotein uptake by macrophages. *Clin Exp Immunol* 1997; 107(3): 569–573.
- Lozier J, Takahashi N, Putman FW. Complete amino acid sequence of human plasma β 2glycoprotein I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(12): 3640–3644.
- Kristensen T, Schousbe I, Boel E et al. Molecular cloning and mammalian expression of human beta 2-glycoprotein I cDNA. *FEBS Lett* 1991; 289(2): 183–186.
- Agar C, van Os GM, Mörglein M et al. Beta2-Glycoprotein I can exist in two conformations: implication for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2010; 116(8): 1336–1343. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2009-12-260976>>.
- George J, Harats D, Gilburd B et al. Immunolocalization of beta-2-glycoprotein I (apolipoprotein H) to human atherosclerotic plaques: potential implications for lesion progression. *Circulation* 1999; 99(17): 2227–2230.
- Kobayashi K, Kishi M, Atsui T et al. Circulating oxidized low density lipoprotein forms complexes with β 2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J Lipid Res* 2003; 44(4): 716–726.
- Ylä-Herttua S, Palinski W, Rosenfeld ME et al. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 1989; 84(4): 1086–1095.
- Kajiwara T, Yasuda T, Matsuura E. Intracellular trafficking of β 2-glycoprotein I complexes with lipid vesicles in macrophages: implications on the development of antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun* 2007; 29(2–3): 164–173.
- Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev* 2008; 7(7): 558–566. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2008.04.018>>.
- Monroe DM, Key NS. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J Thromb Haemost* 2007; 5(6): 1097–1105.
- Malia RG, Kitchen S, Greaves M et al. Inhibition of activated protein C and its cofactor protein S by antiphospholipid antibodies. *Br J Haematol* 1990; 76(1): 101–107.
- Ieko M, Sawada KI, Koike T et al. The putative mechanism of thrombosis in antiphospholipid syndrome: impairment of the protein C and the fibrinolytic systems by monoclonal anticardiolipin antibodies. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25(5): 503–507.
- de Laat B, Eckmann CM, van Schagen M et al. Correlation between the potency of a beta2-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant and the level of resistance to activated protein C. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008; 19(8): 757–764. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1097/MBC.0b013e32830f1b85>>.
- Kobayashi K, Matsuura E, Liu Q et al. A specific ligand for β 2-glycoprotein I mediates antibody-dependent uptake of oxidized low-density lipoproteins by macrophages. *J Lipid Res* 2001; 42(5): 697–709.
- Liu Q, Kobayashi K, Inagaki J et al. w-Carboxyl variants of 7-ke-tocholesteryl esters are ligands for β 2-glycoprotein I and mediate antibody-dependent uptake of oxidized LDL by macrophages. *J Lipid Res* 2002; 43(9): 1486–1495.
- Greco TP, Conti-Kelly AM, Anthony JR et al. Oxidized-LDL/ β 2-glycoprotein I Complexes Are Associated With Disease Severity and

Increased Risk for Adverse Outcomes in Patients With Acute Coronary Syndromes. Am J Clin Pathol 2010; 133(5): 737–743. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1309/AJCP88WVRDRDFBAS>>.

22. Ames PR j, Ortiz-Cadanas A, Garcia-De La Torre I et al. Rosuvastatin treatment is associated with a decrease of serum oxidised low-density lipoprotein/ β 2-glycoprotein I complex concentration in type 2 diabetes. Br J Diabetes Vasc Dis 2010; 10(6): 292–299.

23. Lopez LR, Hurley BL, Simpson DF et al. Oxidized low-density lipoprotein/ β 2-glycoprotein I complex I complexes and autoantibodies in patients with type 2 diabetes mellitus. Ann NY Acad Sci 2005; 1051: 97–103.

24. Kraml PJ, Syrovátka P, Potočková J et al. The oxidized low-density lipoprotein/ β 2-glycoprotein I complex is associated with abdominal

obesity in healthy middle-aged men. Ann Nutr Med 2013; 62(1): 7–13. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1159/000343049>>.

doc. MUDr. Pavel Kraml, Ph.D.

✉ pavel.kraml@fnkv.cz

Centrum pro výzkum diabetu, metabolismu a výživy
II. interní kliniky 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha
www.fnkv.cz

Doručeno do redakce 30. 8. 2016

Přijato po recenzi 11. 10. 2016