

Marcos Roberto Andrade Costa Barros

**Detecção de lipoproteínas de baixa densidade minimamente oxidadas (LDL eletronegativas) e de seus autoanticorpos IgG em crianças e adolescentes filhos de hipercolesterolêmicos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Chiara Bertolami.

São Paulo

2004

Marcos Roberto Andrade Costa Barros

**Detecção de lipoproteínas de baixa densidade minimamente oxidadas (LDL eletronegativas) e de seus autoanticorpos IgG em crianças e adolescentes filhos de hipercolesterolêmicos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Chiara Bertolami

São Paulo

2004

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Barros, Marcos Roberto Andrade Costa

**Detecção de lipoproteínas de baixa densidade minimamente oxidadas (LDL eletronegativas) e de seus autoanticorpos IgG em crianças e adolescentes filhos de hipercolesterolêmicos** / Marcos Roberto Andrade Costa Barros. -- São Paulo, 2004.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: Marcelo Chiara Bertolami.

Descritores: 1.HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR/imunologia  
2.ATEROSCLEROSE/fisiopatologia 3.ATEROSCLEROSE/diagnóstico  
4.LIPOPTEÍNAS LDL 5.AUTO-ANTICORPOS/genética 6.CRIANÇA  
7.ADOLESCENTE 8.ESTUDOS DE CASOS E CONTROLES

### **Dedico**

**ao meu pai**, exemplo de vida (lealdade),

**a minha mãe**, pela sua ida (saudade),

**a minha filha**, pela sua vinda (felicidade),

nesses quatro anos.

### **Especialmente**

**a minha esposa**, grande amor da minha

vida (eternidade).

## **AGRADECIMENTOS**

A todos que doaram sangue e tempo: pacientes, pais e filhos. Ao advogado e vereador Carlos Faleiros: “a vida não impõe limites, oferece estímulos”.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Chiara Bertolami. Como já lhe disse, aprendi muito mais que Medicina.

Ao meu colega Dr. Waldinai Ferreira, presente na minha ausência, pela inestimável e essencial ajuda.

À equipe da Seção Médica de Dislipidemias (Lipo) do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Yara, Vera e o caríssimo amigo Dr. André Arpad Faludi.

À Prof. Dra. Dulcinéia Saes Parra Abdalla, pelo apoio e observações pontuais. À equipe de orientandos do Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCC/USP), pela boa vontade e apoio técnico.

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, sem exceção, pela grande ajuda técnica, dicas e excelente ambiente de trabalho.

Às secretárias da comissão de Pós-Graduação do InCor, pela paciência e ajuda.

A Deus, por tudo.

# SUMÁRIO

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	15
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	16
3.1 População avaliada.....	16
3.1.1. Critérios de inclusão.....	16
3.1.2. Critérios de exclusão.....	17
3.2 Métodos.....	18
3.3 Determinação do perfil lipídico e lipoproteínas de baixa densidade oxidadas e dos anticorpos monoclonais.....	25
3.3.1. Perfil lipídico.....	25
3.3.2 Detecção de LDL oxidada no plasma por ELISA.....	26
3.3.3 Determinação de autoanticorpos anti-LDL oxidada.....	28
3.4. Cálculo da amostra e análise estatística.....	29
4. RESULTADOS.....	31
4.1. Perfil lipídico.....	33
4.2. LDL eletronegativa .....	34
4.3. Anticorpos anti-LDL <sup>-</sup> .....	36
4.4. Correlação entre as variáveis.....	40

5. Discussão.....	42
6. ANEXO. Termo de consentimento livre e esclarecido .....	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61

## RESUMO

BARROS, M.R.A.C. **Detecção de lipoproteínas de baixa densidade minimamente oxidadas (LDL eletronegativas) e de seus autoanticorpos IgG em crianças e adolescentes filhos de hipercolesterolêmicos.** São Paulo, 2004. 75p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

A modificação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) é considerada etapa essencial no processo aterosclerótico, gerando partículas LDL minimamente oxidadas, também chamadas LDL eletronegativas (LDL<sup>-</sup>), com propriedades quimiotáticas, citotóxicas e imunogênicas. Estudamos as concentrações séricas de LDL<sup>-</sup> e de autoanticorpos IgG anti-LDL<sup>-</sup> mensuradas por ELISA em crianças e adolescentes portadoras de antecedentes de Hipercolesterolemia Familiar (AHF), com ou sem Doença Arterial Coronária precoce em parentes de primeiro grau (ADAC), hipercolesterolêmicas (HC) ou normocolesterolêmicas (NC) em comparação a grupo controle normocolesterolêmico e sem antecedentes patológicos (C). Os níveis séricos de LDL<sup>-</sup> não foram diferentes quando comparados nos quatro grupos (AHF-ADAC-HC  $41,4 \pm 24,9$ ; AHF-HC  $38,3 \pm 11,2$ ; AHF-NC  $47,3 \pm 17,0$  e C  $44,2 \pm 28,8$ , com  $p=0,659$ ). Entretanto, os títulos de autoanticorpos anti-LDL<sup>-</sup> foram significativamente maiores no grupo controle quando comparado aos grupos com AHF com ou sem ADAC, independente de hipercolesterolemia ou normocolesterolemia (AHF-ADAC-HC  $0,825 \pm 0,289$ ; AHF-HC  $0,667 \pm 0,307$ ; AHF-NC  $0,763 \pm 0,204$  e C  $1,105 \pm 0,233$ , com  $p=0,006$ ). Entre os grupos com AHF, com ou sem ADAC e com ou sem hipercolesterolemia, não houve diferença estatística ( $p=0,302$ ;  $p=0,509$ ) nos títulos de autoanticorpos. Esses resultados sugerem que pode haver a formação de imunocomplexos ac-LDL<sup>-</sup> em crianças e adolescentes portadores de AHF e/ou ADAC, independente de níveis séricos de LDL-colesterol ou que os autoanticorpos anti-LDL<sup>-</sup> possam estar associados a indivíduos de baixo risco durante as primeiras décadas de vida.

## SUMMARY

BARROS, M.R.A.C. **Identification of mildly oxidized low-density lipoproteins (eletronegative LDL) and its auto-antibodies IgG in children and adolescents hypercholesterolemic offsprings.** São Paulo, 2004. 75p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo

Oxidative modification of low-density lipoproteins (LDL) is an essential step in atherogenesis, generating mildly oxidized LDL, also called eletronegative LDL (LDL<sup>-</sup>), which have chemotactic, cytotoxic and immunogenic properties. We studied plasma concentrations of LDL<sup>-</sup> and anti-LDL<sup>-</sup> autoantibodies (IgG) in children and adolescents with Familial Hypercholesterolemia antecedents (FHA), with or without Coronary Artery Disease in first-degree relatives (CADA), hypercholesterolemic (hc) or normocholesterolemic (nc) versus a control group of normocholesterolemic children without pathologic antecedents (C). ELISA method was used. LDL<sup>-</sup> serum levels were not different in the four groups (FHA-CADA-hc  $41,4 \pm 24,9$ ; FHA -hc  $38,3 \pm 11,2$ ; FHA -nc  $47,3 \pm 17,0$  and C  $44,2 \pm 28,8$ ,  $p=0,659$ ). However, IgG anti-LDL<sup>-</sup> autoantibodies were significantly higher in the control group in comparison to the groups with FHA with or without CADA, independently of hypercholesterolemia or normocholesterolemia (FHA-CADA-hc  $0,825 \pm 0,289$ ; FHA-hc  $0,667 \pm 0,307$ ; FHA-nc  $0,763 \pm 0,204$  and C  $1,105 \pm 0,233$ ,  $p=0,006$ ). When the autoantibodies of groups with FHA, with or without CADA and with or without hypercholesterolemia were compared, no differences existed ( $p=0,509$ ). These results suggest that in FHA and/or CADA children and adolescents, independently of LDL-cholesterol, imunocomplexes autoantibodies-LDL<sup>-</sup> are formed but not detected by the utilized method, or the anti-LDL<sup>-</sup> autoantibodies are associated with low risk during the first decades of life.