

# Concentração e funcionabilidade da HDL



Dr. Antonio Casella Filho

MD, MSc, PhD, FACC - Graduação em Medicina e Mestrado em Clínica Médica-Cardiologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Doutorado em Cardiologia pelo Instituto de Cardiologia (InCor) da Faculdade de Medicina - USP. *Fellow do American College of Cardiology (FACC)*, Médico Pesquisador da Unidade Clínica de Aterosclerose do InCor-HCFMUSP.

## Introdução

Sem dúvida alguma, o metabolismo da lipoproteína de alta densidade (HDL) é extremamente complexo, fascinante e muitas vezes surpreendente. Sabemos hoje em dia que o nível plasmático do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) é relacionado com um grande número de polimorfismos genéticos, assim como é influenciado por diferentes fatores que também afetam o risco cardiovascular, tais como tabagismo, obesidade, hipertrigliceridemia e doenças inflamatórias sistêmicas<sup>(1,2,3,4)</sup>. Além destes fatores, os níveis de HDL-C também podem variar geograficamente, como por exemplo no Brasil onde a prevalência de concentrações baixas de HDL-C foi observada em cerca de 46% dos homens<sup>(5)</sup>.

HDL-C e HDL não são sinônimos e existe uma clara distinção entre eles. O HDL-C é o colesterol que, por ser insolúvel no sangue, é carreado na for-

ma de éster de colesterol por partículas de lipoproteínas de alta densidade, as partículas de HDL.

A HDL é uma mistura extremamente heterogênea de partículas de lipoproteína e esta heterogeneidade provavelmente é causada por contínuas mudanças entre suas várias subfrações ou subpopulações, influenciadas por vários fatores plasmáticos e, uma das consequências disto é que estas diversas subfrações são muito diversas estruturalmente.

Além disto, as partículas de HDL podem transportar quase uma centena de diferentes proteínas e enzimas, evidenciadas por técnica de proteômica, que estão em constante movimentação e que proporcionam as características das propriedades funcionais destas partículas. Interessante destacar que muitas destas proteínas e enzimas associadas ainda não se conhece precisamente qual a sua função e somente parte delas é que são relacionadas diretamente com o metabolismo lipídico. As outras estão relacionadas com processos de inibição de

proteases, regulação do complemento, resposta de fase aguda, entre outros<sup>(6)</sup>.

As partículas de HDL compreendem subfrações ou subpopulações que variam em tamanho, forma e composição. Elas se distribuem de acordo com o tamanho e carga na superfície em pré-β HDL e HDL α (incluindo as subespécies HDL3a, HDL3b, HDL3c, HDL2a e HDL2b)<sup>(7)</sup>. As partículas de HDL contém várias apolipoproteínas a mais abundante é a apolipoproteína A-I, (APOA-I) que medeia o efluxo de colesterol celular através do transportador cassete de ATP-A1 (ABCA1). Este processo produz as partículas nascentes de HDL que são de forma discoidal<sup>(8)</sup>, que são convertidas em HDL esféricas pela enzima lecitina colesterol-aciltransferase (LCAT). As HDL de forma esférica são a forma dominante de HDL no plasma e são removidas no fígado por receptores *scavenger* classe B, tipo I (SR-BI), que medeiam a captação seletiva do éster de colesterol<sup>(9)</sup>.

Entretanto, estudos realizados por eletroforese de dupla dimensão mostram a existência de um número superior a uma dezena de subfrações, cada uma com diferentes composições, revelando indubitavelmente a complexidade das partículas de HDL<sup>(10)</sup>. Uma análise das subfrações da HDL por este método, em participantes homens do *Framingham Offspring Study* mostrou que a redução de 1 mg da subfração HDL α-1 está relacionada com um aumento de 26% no risco de DAC, pois provavelmente estas subfrações são as mais importantes para determinadas funções das partículas de HDL<sup>(11)</sup> (figura1).

Algumas das propriedades funcionais mais importantes atualmente conhecidas, e experimentalmente verificadas, da HDL são: transporte reverso do colesterol, inibição da oxidação do LDL-C, ação anti-inflamatória na parede vascular e ação no endotélio<sup>(12)</sup>.

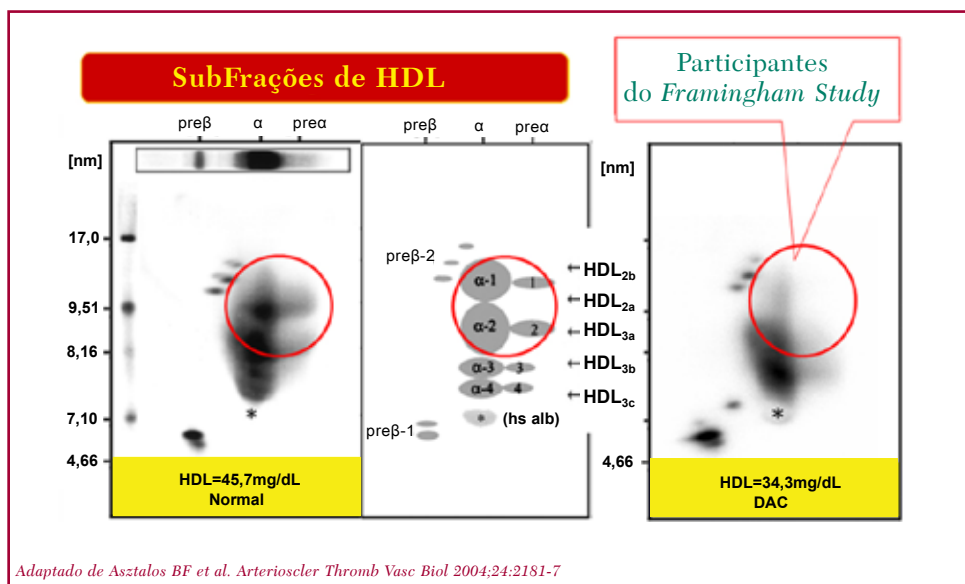


FIGURA 1. Eletroforese de dupla dimensão de participantes do *Framingham Offspring Study* mostrando uma redução das sufrações HDL-alfa 1 e HDL-alfa 2 nos pacientes com DAC em relação aos participantes normais.

## HDL e o transporte reverso do colesterol

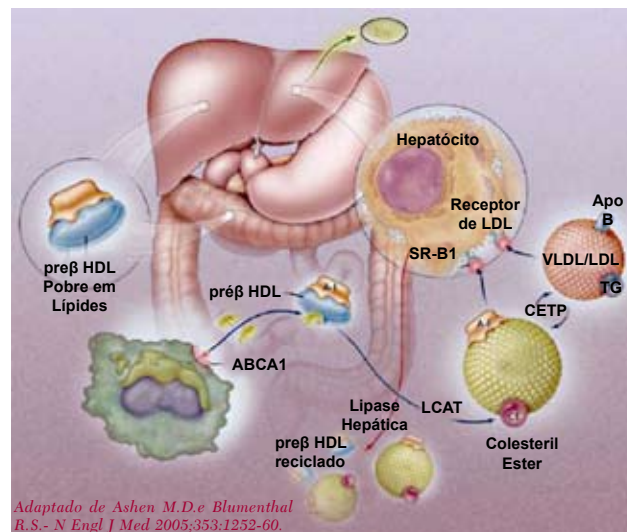
As partículas de HDL originam-se de vários locais no organismo, sendo que a maior parte da produção de APOA-I, constituinte fundamental das partículas nascentes de HDL, é proveniente do fígado e do intestino<sup>(13)</sup>.

A enzima lipoproteína lipase por sua vez, agindo nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e nos quilomícrons (QM), faz com que se desprendam componentes de superfície destas lipoproteínas, como colesterol livre e fosfolípidos, dando origem a estruturas lamelares denominadas pré $\beta$  HDL, que são as partículas nascentes de HDL, responsáveis pela remoção do excesso de colesterol das células periféricas através das membranas celulares.

Esta remoção do colesterol das células pelas pré $\beta$  HDL ou APOA-I dissociadas ocorre graças à interação com os receptores de membrana das células periféricas conhecido como ABC A-1 (ATP binding cassette transporter A-1) e SR-BI (Scavenger Receptor class B type I). Outro membro da família ABC, o ABC G-1 (ATP binding cassette transporter G-1), está envolvido no efluxo do HDL maduro, porém não naqueles pobres em lipídios<sup>(14)</sup>. Esta capacidade das partículas de HDL de efluir o colesterol da LDL dos tecidos periféricos e transportá-lo ao fígado parece ter uma relação íntima com as características intrínsecas de suas subfrações e apolipoproteínas conjugadas.

As HDL<sub>2</sub>, ricas em triglicérides, são metabolizadas pela lipoproteína lipase hepática o que favorece a subsequente remoção seletiva do colesterol esterificado de seu núcleo, pelos receptores SR-BI. Os componentes remanescentes das HDL, principalmente, apolipoproteínas, retornam ao interstício, reiniciando o ciclo de retirada de colesterol

celular. A todo este processo é que chamamos de transporte reverso de colesterol, responsável pela remoção do colesterol da periferia para o fígado para ser eliminado na bile (figura 2).



**FIGURA 2.** Transporte reverso de colesterol-As pré $\beta$  HDL, ricas em APOA-I, são sintetizadas pelo fígado ou mucosa intestinal e liberadas para a circulação onde, promovendo a transferência do excesso de colesterol livre dos macrófagos, vão aumentando de tamanho e se transformando nas HDL<sub>3</sub> e 2. Estas são transportadas ao fígado onde são processadas.

## HDL e a inibição da oxidação do LDL-C

A oxidação das biomoléculas de LDL-C no espaço subendotelial é considerada como um dos processos principais na aterogênese ocorrendo em vigência de situações de estresse oxidativo. As moléculas de LDL-C minimamente oxidadas (LDL-MM) são indutoras da produção de substâncias quimiotáticas aos monócitos circulantes, o que os estimula a um processo de adesão no leito vascular e interiorização no espaço subendotelial, onde se transformam em macrófagos. Estes macrófagos fagocitam LDL-C oxidado e se transformam em células espumosas, substratos fundamentais das placas ateroscleróticas subendoteliais.

Este processo pode ser atenuado ou suprimido pelo efeito antioxidativo da HDL sobre o LDL-C, inibindo parte do processo de oxidação subendotelial, através da atividade das enzimas associadas às suas apoproteínas as quais podem prevenir ou mesmo reverter este processo<sup>(15)</sup>.

A paraoxonase 1 e 3 (PON1 e 3), a glutathione fosfolípide peroxidase, a acetil-hidrolase do fator ativador de plaquetas (PAF-AH) e a LCAT são enzimas transportadas pela HDL e responsáveis pela hidrólise dos produtos de oxidação do LDL-C<sup>(16)</sup>. Recentemente, Kontush e colaboradores<sup>(17)</sup> demonstraram que a atividade antioxidante das subfrações da HDL é dependente da densidade de suas partículas sendo que as menores e mais densas parecem possuir maior poder antioxidante, obedecendo à seguinte sequência: HDL2b < HDL2a < HDL3a < HDL3b < HDL3c. Esta heterogeneidade de atividade antioxidante entre as subfrações, provavelmente se deve à distribuição não uniforme das apolipoproteínas e enzimas associadas<sup>(18)</sup>.

A potente atividade antioxidativa protetora observada nas menores e mais densas partículas, provavelmente se deve ao sinergismo na inativação de lipídios oxidados por mecanismos enzimáticos (PON, LCAT e PAF-AH) e não enzimáticos, refletindo, portanto, propriedades físico-químicas intrínsecas<sup>(19)</sup>. Estas variações funcionais entre as subfrações sugerem, então, que provavelmente não é somente o aumento ou a redução da concentração de HDL-C que determina a proteção contra a doença aterosclerótica, mas também a concentração das subpopulações de HDL, a mobilização celular de lipídios, assim como a própria cinética do metabolismo do HDL-C<sup>(20)</sup>.

## HDL e a ação anti-inflamatória na parede vascular

A HDL possui propriedades anti-inflamatórias entre as quais se encontra a inibição da expressão das moléculas de adesão na superfície das membranas celulares endoteliais (VCAM e ICAM), responsáveis pelo recrutamento monocitário plasmático para o interior da parede vascular. Em experimentos com culturas celulares o acréscimo de HDL no meio celular contendo LDL-C produz importante redução da transmigração monocitária<sup>(21)</sup>.

Entretanto, sob condições pró-inflamatórias sistêmicas o proteossomo das partículas de HDL pode sofrer alterações estruturais e, paradoxalmente, perder as características funcionais vasoprotetoras e se transformar de moléculas com características anti-inflamatórias para moléculas disfuncionais, assumindo um caráter pró-inflamatório e pró-oxidante<sup>(22)</sup>.

## HDL e função endotelial

Normalmente, na circulação sanguínea, a força de cisalhamento ou de arraste, a *shear stress*, que o fluxo exerce sobre a parede do vaso sanguíneo, promove a produção de óxido nítrico pelas células endoteliais, desencadeando um processo de relaxamento da musculatura lisa vascular.

O óxido nítrico (NO) possui uma variedade de funções anti-aterogênicas e é essencial para a manutenção da saúde vascular. De fato, reduções da biodisponibilidade do NO estão ligadas a alterações funcionais associadas com disfunção endotelial e aterogênese. Em decorrência da sua breve meia-vida, torna-se difícil dosá-lo, entretanto, produtos estáveis oriundos de reações com o NO, podem servir como um índice da sua disponibilidade<sup>(23)</sup>.

Recentemente, mostrou-se que a ligação da HDL

ao receptor *Scavenger*-BI (SR-BI) ativa a enzima endotélio óxido nítrico sintase (eNOS) através da mobilização intracelular de  $Ca^{2+}$  e da fosforilação da eNOS, mediada pela Akt, promovendo liberação de Óxido Nítrico (NO) pelas células endoteliais. Os efeitos vasoativos parecem se relacionar com lisofosfolípidos carregados pela HDL e representam um aspecto interessante da função antiaterogênica destas biomoléculas<sup>(24,25)</sup>.

Comprovando clinicamente estes dados, Spieker *et al*<sup>(26)</sup> demonstraram que a infusão aguda de HDL reconstituído, em indivíduos hipercolesterolêmicos, era eficaz na melhora da disfunção endotelial, que geralmente acompanha estes casos, por aumento da biodisponibilidade de NO, indicando realmente que a HDL possui efeitos endotélio-protetores por mecanismos de efeitos rápidos.

Muitas outras funções das partículas de HDL foram recentemente demonstradas, como a capacidade da APOA-I da HDL de neutralizar as propriedades pró-coagulantes dos fosfolípidos, prevenindo a es-

timulação inapropriada da coagulação sanguínea, assim com um importante papel na imunidade inata, entre outros<sup>(27,28,29)</sup>.

## Algumas considerações finais

Grandes estudos têm consistentemente demonstrado que a estratégia terapêutica para prevenir a aterosclerose centrada na redução plasmática agressiva das lipoproteínas aterogênicas, resultou em uma redução somente de 30 a 40% do risco relativo dos principais eventos cardiovasculares.

Através de dados obtidos de estudos epidemiológicos observou-se que o significativo risco residual relacionava-se em grande parte com níveis plasmáticos baixos de HDL-C.

Entretanto, torna-se cada vez mais claro que isso pode ser uma simplificação do problema pois o HDL-C representa uma heterogeneidade de partículas de HDL, com inúmeras proteínas associadas e com características funcionais singulares, somente algumas delas relacionadas com o metabolismo lipídico.

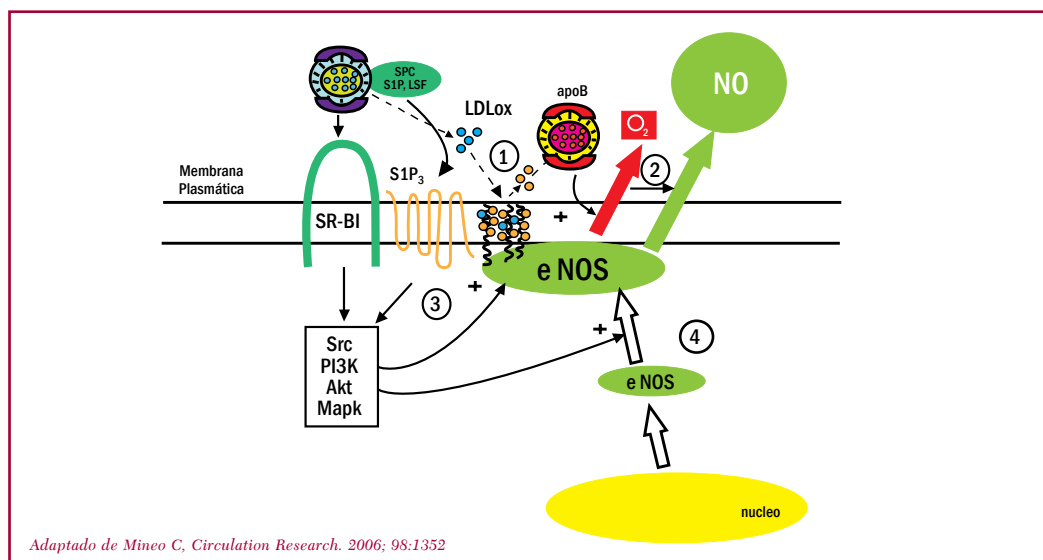


FIGURA 3. Ligação de HDL ao receptor *Scavenger*-BI (SR-BI) ativando a enzima eNOS sintase.

No momento, não há nenhuma evidência consistente de que elevar somente a concentração de HDL-C por meio farmacológico reduz o risco cardiovascular. Resultados de metanálises envolvendo grande quantidade de participantes com risco de eventos cardiovasculares sugerem que, ao lado da quantidade, a

qualidade funcional das partículas de HDL pode ser fundamental na redução de risco cardiovascular. Provavelmente, a funcionalidade das partículas de HDL seja mesmo até mais importante do que sua massa, porém esta hipótese ainda precisa ser confirmada em grandes ensaios clínicos randomizados.

### Referências

1. Criqui, M. H., R. B. Wallace, G. Heiss, M. Mishkel, G. Schonfeld, and G. T. Jones. Cigarette smoking and plasma high-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation*. 1980; 62 :IV70 – IV76.
2. Rashid, S., and J. Genest. Effect of obesity on high-density lipoprotein metabolism. *Obesity (Silver Spring)*. 2007; 15: 2875 – 2888.
3. Lann, D., and D. LeRoith. Insulin resistance as the underlying cause for the metabolic syndrome. *Med. Clin. North Am.* 2007; 91 : 1063 – 1077.
4. Khovidhunkit, W., R. A. Memon, K. R. Feingold, and C. Grunfeld. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J. Infect. Dis.* 2000; 181 : S462 – S472.
5. Passos VM, Barreto SM, Diniz LM, Lima-Costa MF. Type 2 diabetes: prevalence and associated factors in a Brazilian community—the Bambui health and aging study. *Sao Paulo Med J* 2005;123:66–71.
6. Vaisar T, Pennathur S, Green PS, Gharib SA, Hoofnagle AN, Cheung MC, Byun J, Vuletic S, Kassim S, Singh P, Chea H, Knopp RH, Brunzell J, Geary R, Chait A, Zhao XQ, Elkon K, Marcovina S, Ridker P, Oram JF, Heinecke JW. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the anti-inflammatory properties of HDL. *J Clin Invest.* 2007; 117(3): 746–756
7. Xu, Y. and Fu M. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2003; 332: 95-102.
8. Bodzioch, M., E. Orso, J. Klucken, T. Langmann, A. Bottcher, W. Diederich, W. Drobnik, S. Barlage, C. Buchler, M. Porsch-Ozcurumez, W. E. Kaminski, H. W. Hahmann, K. Oette, G. Rothe, C. Aslanidis, K. J. Lackner, and G. Schmitz. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nature genetics* 1999; 22: 347-351
9. Xu, S., Laccotripe M, Huang X, Rigotti A, Zannis VI, and Krieger M. Apolipoproteins of HDL can directly mediate binding to the scavenger receptor SR-BI, an HDL receptor that mediates selective lipid uptake. *Journal of lipid research* 1997; 38: 1289-1298.
10. Li Z, McNamara JR, Ordovas JM, Schaefer EJ. Analysis of high density lipoproteins by a modified gradient gel electrophoresis method. *J Lipid Res.* 1994;35:1698-711
11. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, Schaefer EJ. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart dis-



- ease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Nov;24(11):2181-7.
12. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002;420:6917.
  13. Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, Coburn BA, Bissada N, Staels B, Groen AK, Hussain MM, Parks JS, Kuipers F, Hayden MR. Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *J Clin Invest.* 2006;116(4):1052-62.
  14. Barter P, Kastelein J, Nunn A, et al. High density lipoproteins and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis.* 2003;168:195-211.
  15. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest.* 1995;96:2882-91.
  16. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004;95:764-72.
  17. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(10):1881-8.
  18. Bisgaier CL, Sackdev OP, Megna L, Glickman RM. Distribution of apolipoprotein A-IV in human plasma. *J Lipid Res.* 1985;26(1):11-25.
  19. Ribas V, Sanchez-Quesada JL, Anton R, Camacho M, Julve J, Escola-Gil JC, et al. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties: a new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential. *Circ Res.* 2004;95(8):789-97.
  20. Tall AR, Jiang X, Luo Y, Silver D. 1999 George Lyman Duff memorial lecture: lipid transfer proteins, HDL-C metabolism, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1185-8.
  21. Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough JP, Ross LA, Bork RW, et al. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemoattractant protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest.* 1991;88(6):2039-46.
  22. Ansell BJ, Fonarow GC, Fogelman AM. High-density Lipoprotein: Is it always atheroprotective? *Curr Atheroscler Rep.* 2006; 8: 405-411.
  23. Lauer T, Kleinbongard P, Kelm M. Indexes of NO bioavailability in human blood. *News Physiol Sci.* 2002;17(6):251-5.
  24. Shaul PW, Mineo C. HDL action on the vascular wall: is the answer NO? *J Clin Invest.* 2004;113(4):509-13.
  25. Nofer JR, van der Giet M, Tolle M, Wolinska I, von Wnuck Lipinski K, Baba HA, et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest.* 2004;113(4):569-81.
  26. Spieker LE, Sudano I, Hurlimann D, Lerch PG, Lang MG, Binggeli C, Corti R, Ruschitzka F, Luscher TF, Noll G. High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men. *Circulation.* 2002;105:399-402.
  27. Oslakovic C, Krisinger MJ, Andersson A, Jauhiainen M, Ehnholm C, Dahlbäck B: Anionic phospholipids lose their procoagulant properties when incorporated into high density lipoproteins. *J Biol Chem* 2009, 284:5896-5904
  28. Nofer JR, van der Giet M, Tolle M, et al. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. *J Clin Invest.* 2004; 113: 569-581.
  29. Feingold, KR and Grunfeld, C. The Role of HDL in Innate Immunity *J Lipid Res.* 2010 Oct 13. [Epub ahead of print]