

## sdLDL como potencial biomarcador no diagnóstico e prevenção de doença cardiovascular em diabéticos

*sdLDL as a potential biomarker in the diagnosis and prevention of cardiovascular disease in diabetics*

Ana Raimundo, Cibelle Mariano, Ana Catarina Alves, Pedro Aguiar, Mafalda Bourbon

ana.raimundo@insa.min-saude.pt

Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

### \_Resumo

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morbilidade e mortalidade a nível mundial. De entre os fatores de risco conhecidos para as DCV, destacam-se a dislipidemia, a hipertensão, a diabetes e o excesso de peso/obesidade. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) constituem um dos marcadores bioquímicos recomendados para diagnosticar as DCV. No entanto, as lipoproteínas mais pequenas e mais densas - *small dense LDL (sdLDL)* - parecem ter um efeito mais aterogénico, refletindo-se num risco acrescido de DCV. O doseamento de sdLDL tem demonstrado em diferentes estudos um aumento da sua concentração em indivíduos com Diabetes Mellitus do tipo 2. Este estudo pretende investigar esta associação na população portuguesa, tendo por base uma população do estudo e\_COR. Foram determinados alguns parâmetros bioquímicos no sangue e reunidos dados clínicos através de questionários. As análises estatísticas foram realizadas através do programa *IMB SPSS Statistics 22*. Os resultados deste estudo evidenciaram que os indivíduos diabéticos apresentam níveis de sdLDL superiores aos não diabéticos, registando-se uma forte associação entre o rácio sdLDL/LDL e a diabetes. A determinação deste rácio pode vir assim a ser considerada como um potencial biomarcador para diagnóstico de DCV em diabéticos, embora sejam necessários mais estudos epidemiológicos para uma conclusão mais definitiva.

### \_Abstract

*Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of morbidity and mortality worldwide. Among the known risk factors for CVD we highlight dyslipidemia, hypertension, diabetes and overweight. The Low-density lipoproteins (LDL) are one of the recommended biochemical markers to diagnose CVD. However, the small dense lipoproteins (sdLDL) appears to have a more atherogenic effect, reflecting increased risk of CVD. Quantification of sdLDL have demonstrated in different studies an increase of its concentration in individuals with Type 2 Diabetes Mellitus. In the present study, we propose to investigate this association in the Portuguese population, using the e\_COR sample. The biochemical parameters were determined in the blood and clinical data was collected through questionnaires. Statistical analyzes were performed using the IMB SPSS 22 Statistics program. Results showed that diabetic subjects have higher levels of sdLDL than non-diabetics, with a strong association between the sdLDL/LDL ratio and diabetes. Determination of this ratio may thus be considered as a potential biomarker for diagnosis of CVD in diabetics, although more epidemiological studies are needed for a more definitive conclusion.*

### \_Introdução

A diabetes constitui um fator de risco independente para a doença cardiovascular (DCV), aumentando em cerca de duas vezes o risco de Acidente Vascular Cerebral (AVC) ou de Doença Arterial Coronária (DAC), quando comparado com indivíduos não diabéticos (1). O padrão lipémico mais comum nos indivíduos com Diabetes Mellitus do tipo 2 (DMT2) caracteriza-se por níveis aumentados de triglicéridos e níveis mais baixos de lipoproteínas de elevada densidade (HDL), quando comparados com indivíduos não diabéticos. Os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são semelhantes, mas as partículas de LDL nos diabéticos são mais pequenas e mais densas - *small dense LDL (sdLDL)* -, tornando-as mais aterogénicas do que as partículas de LDL nos indivíduos não diabéticos (2, 3).

### \_Objetivo

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação entre a maior proporção de partículas de sdLDL no soro e a DMT2 na população portuguesa, tendo por base a população do estudo e\_COR (Prevalência de fatores de risco cardiovascular na população portuguesa).

### \_Materiais e métodos

Participaram no estudo e\_COR 1688 indivíduos, distribuídos pelas regiões Norte, Centro, Lisboa, Alentejo e Algarve. Como critério de exclusão para o presente trabalho foi considerada a terapêutica para a dislipidemia, na medida em que pode alterar, de forma diferenciada, os parâmetros bioquímicos considerados. Neste contexto, a população final do estudo consistiu em 1215 indivíduos (610 homens e 605 mulheres), com idade

entre os 18 e os 79 anos. A colheita de sangue foi realizada com os participantes em jejum. Os níveis séricos de sdLDL foram determinados através de um ensaio colorimétrico enzimático de dois passos (kit sLDL-EX"SEIKEN"), no analisador automático Daytona (Randox). Por outro lado, os níveis séricos de Colesterol LDL (C-LDL), Colesterol HDL (C-HDL), Colesterol Total e Triglicéridos foram determinados no analisador automático, modelo COBAS 400 Plus (Roche) através de um ensaio colorimétrico enzimático. Para o cálculo da prevalência da diabetes, foi determinada a glicémia através do método da hexoquinase, no mesmo analisador automático COBAS Integra e a hemoglobina glicada (HbA1C) no Cromatógrafo de Elevada Performance (HPLC), modelo HA8160 (Menarini). Foram considerados diabéticos (DMT2) os indivíduos que apresentavam um valor de glicose em jejum igual ou superiores a 126 mg/dL (determinado em 2 ocasiões distintas), ou abaixo deste valor, desde que a cumprir terapêutica para a diabetes; ou que apresentavam valores de HbA1C em jejum iguais ou superiores a 6,5% (determinado em 2 ocasiões distintas), ou abaixo deste valor, desde que a realizar terapêutica para a diabetes.

Os restantes dados (Idade, Índice de Massa Corporal ou IMC, Hipertensão e Medicação) foram agregados numa base de dados através da análise dos questionários realizados a cada participante.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa *IMB SPSS Statistics 22*. O teste de  $\chi^2$  foi utilizado para analisar as variáveis discretas. Paralelamente, as variáveis contínuas foram analisadas segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar o tipo de distribuição. Destas, as que apresentaram uma distribuição normal foram analisadas na comparação diabéticos *versus* não diabéticos através do Teste T de *Student* e as que não apresentaram uma distribuição normal foram analisadas através do teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Foi considerado um nível de significância estatística de 5% ( $p$ -value <0,05). Foram determinados OR (*Odds Ratio*) ajustados e respetivos intervalos de confiança a 95% como medidas de associação com a diabetes. Foram introduzidas no modelo as variáveis que revelaram associação estatisticamente significativa com a diabetes na análise bivariável sem evidência de

colineariedade (como acontece por exemplo entre as variáveis sdLDL e sdLDL/LDL). O modelo de regressão logística múltiplo foi otimizado por um método *Backward selection*.

## \_Resultados

As características clínicas e bioquímicas da população estudada encontram-se resumidas na [tabela 1](#). A população diabética tem um IMC significativamente superior ao da população não diabética, uma idade média mais alta e uma maior prevalência de Hipertensão Arterial (HTA). Os níveis de sdLDL são igualmente superiores na população diabética (34,85 mg/dL *versus* 28,84 mg/dL), assim como a razão sdLDL/LDL (27,64% *versus* 23,08%).

A análise das variáveis com diferença estatística entre os dois grupos ( $p$ -value <0,05) numa regressão logística com a diabetes como variável dependente (e onde foram retiradas as variáveis que não contribuíam para melhorar o modelo final), demonstrou que a presença de uma maior proporção de partículas de LDL mais pequenas e mais densas no soro (razão sdLDL/LDL) está fortemente associada à diabetes (OR=27,39), independentemente de potenciais efeitos da idade, IMC e HTA ([tabela 2](#)).

O grau de desempenho deste modelo foi avaliado através de uma análise ROC (*Receiver Operating Characteristic*), designadamente através da área abaixo da curva ROC. Aplicando os dados no programa SPSS, é obtida a área de 0,87, que comprova que este modelo é adequado <sup>(4)</sup> ([gráfico 1](#)).

Tabela 1: Características clínicas e bioquímicas da população estudada, dividida em dois grupos – não diabéticos e diabéticos.

	Não diabéticos (n = 1140)	Diabéticos (n = 75)	p-value
Idade (anos)	42,97 (±16,63)	63,32 (±13,93)	<0,001
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	25,87 (±4,77)	29,58 (±4,42)	<0,001
Sexo, M/F	563/577 (49,4%/50,6%)	47/28 (62,7%/37,3%)	0,017
HTA, com/sem	351/789 (30,8%/69,2%)	67/8 (89,3%/10,7%)	<0,001
Colesterol total (mg/dL)	196,89 (± 36,81)	198,27 (± 45,48)	0,838
C-HDL (mg/dL)	56,72 (± 15,30)	50,57 (± 15,89)	<0,001
Triglicéridos (mg/dL)	101,43 (± 66,62)	145,56 (± 87,18)	<0,001
C-LDL (mg/dL)	122,55 (± 33,22)	124,77 (± 37,33)	0,616
sdLDL (mg/dL)	28,84 (±14,13)	34,85 (±16,20)	<0,001
sdLDL/LDL (%)	23,08 (±7,83)	27,64 (±9,09)	<0,001

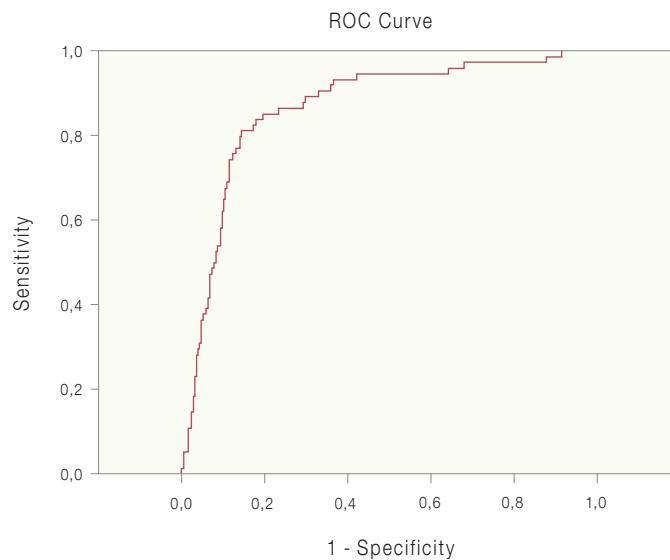
Os dados são apresentados como sendo a média ± o desvio padrão, com exceção para os dados de frequência.

Tabela 2: Regressão logística binária após otimização relativamente à presença de diabetes.

Variável	OR	95% IC	p-value
Idade	1,05	1,03-1,08	<0,001
IMC	1,07	1,02-1,13	0,009
HTA	4,96	2,14-11,52	<0,001
sdLDL/LDL	27,39	2,08-360,85	0,012

OR – Odds ratio; IC – intervalo de confiança

Gráfico 1: Curva ROC (Receiver Operating Characteristic) de um modelo estatístico que mostra uma forte associação entre a diabetes e a razão de sdLDL/LDL (AUC = 0,87, p < 0,001).



## \_Discussão

Os resultados deste estudo evidenciaram que os indivíduos diabéticos (DMT2) apresentam níveis de sdLDL superiores aos não diabéticos, numa população sem terapêutica para a dislipidemia. Os indivíduos diabéticos apresentam também mais casos de hipertensão arterial, apresentam em média um IMC superior e caracterizam-se por níveis de triglicéridos mais elevados, quando comparados com os indivíduos não diabéticos. Pelo contrário, apresentam níveis de C-HDL inferiores aos indivíduos não diabéticos. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos níveis de colesterol total e C-LDL entre os dois grupos. Estes resultados encontram-se de acordo com o já estabelecido internacionalmente (2,3,5-7). A regressão logística apresentou uma forte associação entre o rácio sdLDL/LDL e a diabetes, razão pela qual a análise destes dois parâmetros clínicos deve ser recomendada em indivíduos diabéticos como forma de prevenção de DCV, em particular em indivíduos com outros fatores de risco associados (obesidade, hipertensão, tabagismo).

## \_Conclusões

Os indivíduos diabéticos (DMT2) apresentam um maior risco de terem partículas aterogénicas de sdLDL, pelo que o seu doseamento pode vir a ser considerado como um potencial biomarcador para diagnóstico, juntamente com outros biomarcadores tradicionais da dislipidemia. Não obstante, este estudo é ainda insuficiente para concluir que o doseamento de sdLDL é crucial como preditor de uma DCV nos diabéticos, embora constitua um importante ponto de partida para futuros estudos epidemiológicos.

## Referências bibliográficas:

- (1) Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, et al.; Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9733):2215-22. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2904878/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2904878/)
- (2) Hammoud T, Tanguay JF, Bourassa MG. Management of coronary artery disease: therapeutic options in patients with diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(2):355-65. [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109700007324](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109700007324)
- (3) Haffner SM; American Diabetes Association. Management of dyslipidemia in adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2003 ;26(Suppl 1):S74-77. [http://care.diabetesjournals.org/content/26/suppl\\_1/s83.long](http://care.diabetesjournals.org/content/26/suppl_1/s83.long)
- (4) Tape Thomas G. The area under an ROC curve. In: *Interpreting Diagnostic Tests* [Em linha]. University of Nebraska Medical Center. [consult. 29/3/2017]. <http://gim.unmc.edu/dxtests/Default.htm>
- (5) Suh S, Park HD, Kim SW, et al. Smaller Mean LDL Particle Size and Higher Proportion of Small Dense LDL in Korean Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Metab J*. 2011;35(5):536-42. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3221030/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3221030/)
- (6) Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al.; Authors/Task Force Members; Additional Contributor. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2999-3058. [www.atherosclerosis-journal.com/article/S0021-9150\(16\)31267-9/pdf](http://www.atherosclerosis-journal.com/article/S0021-9150(16)31267-9/pdf)
- (7) Grupo de trabalho da European Society of Cardiology e da European Association for the Study of Diabetes para a diabetes e doenças cardiovasculares. Orientações relativas a diabetes, pré-diabetes e doenças cardiovasculares: sumário executivo. *Rev. Port. Cardiol*. 2007;26(11):1213-74. [www.spc.pt/DL/RPC/artigos/871.pdf](http://www.spc.pt/DL/RPC/artigos/871.pdf)