

Transferencias Lipídicas hacia HDL en Diabéticos Tipo 2: Asociaciones con Microalbuminuria, Estatina y Insulina

Gilson Soares Feitosa-Filho, Talita de Mattos Seydell, Alina Coutinho Rodrigues Feitosa, Raul Cavalcante Maranhão, José Antônio Franchini Ramires

Instituto do Coração (InCor), Hospital do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP - Brasil

Resumen

Fundamento: La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un factor de riesgo aislado para coronariopatía, principalmente cuando asociado a la microalbuminuria (MA). Alteraciones estructurales y funcionales de las lipoproteínas no están totalmente aclaradas en ese contexto.

Objetivo: Evaluar no sólo la transferencia de lípidos hacia HDL (T) en pacientes DM2, sino también la asociación tanto con la presencia de la MA como con el tratamiento con estatina o insulina.

Métodos: Estudiamos a 33 pacientes con DM2 y 34 controles pareados para edad. Se incubó con plasma una nanoemulsión lipídica artificial radiomarcada con ^3H -Triglicérido (TG) y ^{14}C -colesterol libre (CL) o ^3H -colesterol esterificado (CE) y ^{14}C -fosfolípido (FL). Se procedió a la precipitación de la nanoemulsión y de las lipoproteínas, con excepción de la HDL, que tuvo su radioactividad contada.

Resultados: El valor de TFL (%) resultó mayor en el grupo con DM2 en confrontación con el grupo-control ($25,2 \pm 3,2$ y $19,7 \pm 3,2$ respectivamente; $p < 0,001$); la TCL (%), por su vez, obtuvo los siguientes resultados: $9,1 \pm 2,7$ y $6,3 \pm 1,5$ respectivamente; $p < 0,001$. El diagnóstico de MA no se asoció a cambios de la propiedad de transferencia. El uso de la insulina se asoció al menor valor de TFL (%): $23,5 \pm 2,1$ vs $26,1 \pm 3,3$; $p = 0,018$. Ya el uso de la estatina se asoció a la baja del valor de todas las lipoproteínas – TCE (%): $3,5 \pm 0,9$; TFL (%): $23,8 \pm 2,0$; TTG (%): $3,9 \pm 0,8$; TCL (%): $7,4 \pm 1,3$ – si comparado al grupo que no usaba estatina (TCE (%): $5,9 \pm 2,4$; TFL (%): $26,9 \pm 3,6$; TTG (%): $6,4 \pm 2,2$; TCL (%): $11,1 \pm 2,6$).

Conclusiones: El DM2 aumentó la transferencia de lípidos de superficie hacia HDL, mientras que el uso de estatina disminuyó todas las transferencias de lípidos. La presencia de MA no se asoció a las alteraciones de las transferencias de lípidos. (Arq Bras Cardiol 2009;92(2):96-102)

Palabras-clave: Colesterol HDL, lipoproteínas, diabetes mellitus tipo 2, insulina, inhibidores de hidroximetilglutaril-CoA reductase, albuminuria, nefropatías diabéticas.

Introducción

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un importante factor de riesgo cardiovascular; la aterosclerosis es su principal causa de óbito. La dislipidemia del DM2 se caracteriza por la ocurrencia de hipertrigliceridemia, HDL colesterol reducido y incremento de la subfracción pequeña y densa de la LDL^{1,2}. En pacientes con DM2, el uso de estatinas reduce mucho el riesgo de eventos cardiovasculares³⁻⁵. La presencia de microalbuminuria aumenta el mayor riesgo de desarrollarse la enfermedad arterial coronaria^{6,7}.

Las clases de lipoproteínas se constituyen de diferentes proporciones de triglicéridos y colesterol esterificado en su núcleo hidrofóbico, además de fosfolípidos y colesterol libre en su superficie anfipática, donde están las apolipoproteínas. La

HDL presenta actividad antiaterosclerótica, pero todavía no se comprendió totalmente el mecanismo por lo que ella ejerce ese rol. El transporte reverso de colesterol es el principal mecanismo previsto. No obstante, otros mecanismos, tales como acciones antiinflamatorias, antitrombóticas y antioxidativas^{8,9}, parecen participar en la función protectora de la HDL.

Se denomina como transporte reverso de colesterol el proceso en el que se remueve el exceso de colesterol de los tejidos periféricos para excreción desde el hígado. La lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT) participa en ese transporte al catalizar la esterificación del colesterol, lo que permite su desplazamiento hacia el núcleo hidrofóbico de la partícula.

Las lipoproteínas plasmáticas intercambian lípidos constantemente, proceso éste facilitado por las proteínas de transferencia, tales como las proteínas de transferencia de éster de colesterol (CETP) y de fosfolípidos (PLTP). La primera media el intercambio de ésteres de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos entre las lipoproteínas¹⁰; la segunda auxilia la transferencia de fosfolípidos y colesterol de otras lipoproteínas ricas hacia la HDL^{11,12}.

Correspondencia: Gilson Soares Feitosa-Filho •

Alameda dos Antúrios, 212/402 - Candéal - 40296-530 - Salvador, BA - Brasil
E-mail: gilsonfilho@cardiol.br

Artículo enviado el 16/01/08; revisado recibido el 25/02/08;
aceptado el 04/03/08.

Los pacientes con DM2 parecen presentar mayor actividad de PLTP^{13,14} así como mayor transferencia de ésteres de colesterol^{15,16}. No hay una definición respecto a la participación de la microalbuminuria en la actividad de las proteínas de transferencia¹⁷. A su vez, algunos estudios evidencian reducción tanto en la actividad de CETP como en la de PLTP, a través del uso de estatinas¹⁸⁻²¹ e insulina²²⁻²⁶.

Las transferencias lipídicas también dependen de diversos otros factores. La concentración de cada subclase de lipoproteína interfiere en esos intercambios, una vez que éstos dependen de las colisiones de las partículas lipoproteicas. Las composiciones lipídica y proteica de la partícula, así como las concentraciones de diversas otras proteínas plasmáticas, pueden influenciar en el proceso.

La compleja relación entre transferencia lipídica y aterogénesis todavía no está aclarada. En el metabolismo plasmático de la HDL, las transferencias lipídicas ejercen un rol fundamental, en la medida que remodelan constantemente las partículas de las lipoproteínas y, con ello, interfieren en sus diversos aspectos funcionales.

El objetivo de este estudio fue evaluar, en pacientes con DM2, la transferencia simultánea hacia la HDL de los cuatro principales lípidos que constituyen su estructura: colesterol libre, éster de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos. Además de ello, verificar la influencia de la presencia de la microalbuminuria y del tratamiento con estatina o insulina sobre las transferencias lipídicas.

Métodos

Se seleccionaron a 33 pacientes voluntarios portadores de diabetes mellitus tipo 2 en los ambulatorios del Instituto do Coração del Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo (InCor-HCFMUSP) y del Ambulatorio de Diabetes del Servicio de Diabetes de la Disciplina de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del Hospital de Clínicas de la Universidad de São Paulo. Se excluyeron primeramente a los individuos en uso de inhibidores de proteasas, drogas inmunosupresoras, corticoides; también los transplantados, cirróticos, portadores de neoplasias, pacientes con tiroidopatías y, por último, los portadores de creatinina sérica > 1,5 mg/dl. Todos los pacientes firmaron un término de consentimiento informado. Se procedieron las colectas de sangre y de orina en el Laboratorio de Metabolismo de Lípidos, en el InCor. Los ensayos funcionales de la HDL (transferencia de lípidos) se realizaron en ese mismo laboratorio. Se analizaron las muestras urinarias en el Laboratorio Central del Hospital de Clínicas, mientras que las determinaciones bioquímicas de las muestras de sangre se realizaron en el Laboratorio del InCor.

Para componerse el grupo control se seleccionaron a 34 individuos que forman parte de un banco de datos del Laboratorio de Metabolismo de Lípidos, pareados por edad. Esos individuos no presentan comorbidades y tampoco utilizan medicaciones. De este grupo, se excluyeron a todos los individuos que tuvieran glucemia de ayuno mayor o igual que 100 mg/dl.

Se orientó la evaluación de los participantes a partir de

historia clínica, en cuyo análisis se enfatizó la búsqueda por antecedentes patológicos y medicaciones en uso. Ya la evaluación laboratorial se condujo tanto a través de colecta de sangre como por dos o tres recolecciones de muestra urinaria en días diferentes para medición de la relación de microalbuminuria/creatininuria.

Determinaciones bioquímicas séricas

Se realizaron las determinaciones bioquímicas de los pacientes diabéticos e individuos control –colesterol total (CT), fracciones (VLDL, LDL y HDL), triglicéridos (TG) y glucemia de ayuno– en muestras de suero obtenidas tras 12 horas de ayuno a través del método colorimétrico y enzimático, COD-PAD (Labtest). Se determinó el colesterol de LDL por medio de la fórmula de Friedewald²⁷: $LDLc = CT - (VLDLc + HDLc)$, en mg/dl, en que se obtiene el VLDLc a través de la división del valor de la concentración de los triglicéridos por 5. Para la determinación de la hemoglobina glicosilada se utilizó sangre total, a partir del método inmunturbidimétrico en el laboratorio de análisis clínicos del InCor-HCFMUSP.

Se determinó la microalbuminuria a partir de la primera muestra aislada de orina de la mañana, a través del método de nefelometría, en el Laboratorio Central del Hospital de Clínicas. En la misma muestra se midió los niveles de la creatinina urinaria. Así, el valor de la relación albumina/creatinina urinaria se expresaba en mcg/mg de creatinina. Se consideraron normales los pacientes con relación albuminuria/creatininuria inferior a 30 mcg/mg, mientras que se definió el valor considerado normal para la microalbuminuria entre 30 y 300 mcg/mg, conforme apuntado por *American Diabetes Association*²⁸. En días diferentes, se recoleccionaban dos muestras urinarias, fuera del período menstrual –en el caso de las mujeres– y en pacientes sin síntomas de infección urinaria. Si los resultados de ambas recolecciones no fueran concordantes, se solicitaba una tercera.

La LDE como herramienta de investigación

En estudios previos, el Laboratorio de Metabolismo de Lípidos de InCor-HCFMUSP ha reproducido el metabolismo de la LDL por medio de una emulsión creada artificialmente, con composición lipídica semejante a la de la LDL natural (LDE)²⁹. El objetivo principal de esos estudios ha sido el uso de la LDE en la investigación de las dislipidemias. La LDE no tiene proteína, pero, al entrar en contacto con las lipoproteínas naturales, adquiere apo E. Ésta puede ser reconocida por el receptor de la LDL, siendo por lo tanto captada por la célula²⁹. Se preparó la LDE según la técnica descrita por Ginsburg et al.³⁰ y modificada por Maranhão et al.²⁹.

Transferencia de colesterol libre, colesterol éster, triglicéridos y fosfolípidos desde la LDE hacia la HDL

Se recolectaron muestras de los pacientes tras ayuno de 12 horas, en EDTA (1,5 g/l), y se obtuvo el plasma luego de 10 minutos de centrifugación, a 3.000 rpm, en centrífuga Sorval RT7. Se incubaron 2 muestras de 200 μ l de plasma con 50 μ l de LDE cada, durante 60 minutos, a 37°C, en agitador orbital Gyromax 706R, bajo agitación de 40 rpm. Se marcaba radiactivamente cada 50 μ l de LDE con ³H-colesterol éster (³H-

CE) y ^{14}C -fosfatidilcolina (^{14}C -PL), o ^3H -triglicéridos (^3H -TG) y ^{14}C -colesterol libre (^{14}C -CL). Tras la incubación, se adicionaron a las mezclas 250 μl de reactivos de precipitación de lipoproteínas compuesto por apo B (sulfato de dextran 0,2%/ MgCl_2 3M, v/v). Se agitaron las mezclas en vortex por 30 segundos y posteriormente se las centrifugaron por 10 minutos a 3.000 rpm. Se obtuvo la fracción HDL tras precipitación de la nanoemulsión, así como de las lipoproteínas compuestas con apo B, coN 250 μl dextran/ MgCl_2 (0,2% Dextran y 0,3 mol/l MgCl_2). Se pipetearon alícuotas de 250 μl del sobrenadante, que contenía la HDL, en frascos de centelleo. Se acrescentaron a estos frascos 5,0 ml de solución centelleadora *Ultima Gold* (PerkinElmer, Boston, USA). Finalmente, la radioactividad presente en cada muestra se cuantificó en contador beta (*Liquid Scintillation Analyzer, Packard 1600 TR*, Palo Alto, CA) a través de la utilización del software Plus Vers. 5.01 de la *Diamond Computers*, con el objetivo de determinar los conteos de ^{14}C y ^3H de las muestras. El blanco para este experimento consiste de la mezcla de 200 μl de solución tampón TRIS-HCl y 50 μl de LDE, incubada y precipitada en las mismas condiciones descriptas anteriormente. Se determinó el valor de radiactividad total presente en la muestra a partir de la incubación de 200 μl de plasma con 50 μl de LDE, seguida de incubación, ahora sin adición de reactivos de precipitación. La cuantificación de los lípidos transferidos de la LDE hacia HDL plasmática se expresó como porcentaje (%) con relación a la radiactividad total incubada.

Análisis estadístico

Se produjo dicho análisis por medio del programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences for Windows*), versión 13.0. Se expresaron las variables continuas en promedio y desviaciones estándar. Las variables categóricas, por su parte, se expresan en valores porcentuales y absolutos.

Para probarse la normalidad de la distribución de las variables, se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Como las variables presentaban distribución no normal, se utilizaron pruebas no paramétricas. Ya para evaluarse la diferencia entre las variables categóricas, se realizó la prueba exacta de Fisher o la prueba Chi-cuadrado.

Se compararon, entonces, no sólo los diabéticos y sus respectivos controles, sino también subgrupos entre los diabéticos, compuestos de acuerdo con la presencia de microalbuminuria, el uso de estatina y la utilización de insulina. Se realizaron las comparaciones de variables continuas independientes por medio de la prueba de Mann-Whitney. Para probar asociaciones, se utilizó la prueba no paramétrica de Spearman. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p < 0,05$, a dos colas.

Resultados

En la Tabla 1 están presentados los datos clínicos, la composición plasmática de los lípidos, así como el control glucémico en pacientes con DM2 y en individuos control. La edad promedio fue de 55 ± 9 años en el grupo DM2, sin diferencia en relación con el grupo control.

No hubo diferencia en las concentraciones plasmáticas de

Tabla 1 – Datos clínicos, perfil lipídico, control glucémico en DM-2 y controles

Variables	Diabéticos (n = 33)	Controles (n = 34)	p
Edad (años)	55±9	54±9	0,327
Sexo masculino – n (%)	18 (54,5%)	16 (47,1%)	0,540
CT (mg/dl)	183±40	174±21	0,455
LDLc (mg/dl)	103±37	108±22	0,547
HDLc (mg/dl)	50±13	49±13	0,890
TG (mg/dl)	149±71	92±36	<0,001
GA (mg/dl)	155±66	87±8	<0,001
HbA1c	7,5±1,4	-	-
IMC (kg/m ²)	31±7	25±3	<0,001
Tiempo de DM (años)	11±7	-	-
Hipertensos – n (%)	22 (66,7%)	0	<0,001
En uso de estatina – n (%)	18 (54,5%)	0	<0,001
En uso de insulina – n (%)	10 (30,3%)	0	<0,001
Microalbuminuria – n (%)	9 (27,3%)	-	-

CT - colesterol total; LDLc - colesterol de lipoproteína de baja densidad; HDLc - colesterol de lipoproteína de alta densidad; TG - triglicéridos; GA - glucemia de ayuno; HbA1c - hemoglobina glicosilada; IMC - índice de masa corporal.

colesterol total, LDL-C y HDL-C entre el grupo de pacientes con DM2 y el grupo control, $p > 0,05$. La concentración plasmática de los triglicéridos en estos pacientes se mostró el 38% mayor ($p < 0,001$), cuando comparados con los individuos control. La glucemia de ayuno fue el 44% mayor en el grupo DM2 ($p < 0,001$). También el índice de masa corporal resultó el 19% mayor entre los pacientes DM2 ($p < 0,001$).

En la Tabla 2 están presentados los valores en porcentaje de lípidos (éster de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos y colesterol libre) transferidos de la nanoemulsión para la HDL de los pacientes diabéticos y de los individuos control.

Tabla 2 – Transferencia de lípidos de la LDE hacia HDL en DM-2 y controles

Variables	Diabéticos (n = 33)	Controles (n = 34)	p
TCE (%)	4,6±2,1	3,8±1,5	0,074
TFL (%)	25,2±3,2	19,7±3,2	<0,001
TTG (%)	5,1±2,1	4,5±1,5	0,314
TCL (%)	9,1±2,7	6,3±1,5	<0,001

TCE - porcentaje de transferencia de ésteres de colesterol de la LDE hacia la HDL; TFL - porcentaje de transferencia de fosfolípidos de la LDE hacia la HDL; TTG - porcentaje de transferencia de triglicéridos de la LDE hacia la HDL; TCL - porcentaje de transferencia de colesterol libre de la LDE hacia la HDL.

No hubo diferencia en la transferencia de éster de colesterol y triglicéridos de la nanoemulsión hacia la HDL entre los pacientes diabéticos, si comparados a los individuos control. Con respecto a la transferencia de colesterol libre y fosfolípidos, éstas se presentaron aproximadamente el 30% y el 22% mayor, respectivamente, en el grupo de los pacientes diabéticos, si comparados al grupo control ($p < 0,001$).

Entre los pacientes diabéticos, no se notaron diferencias significativas respecto a la presencia o ausencia de MA. Sin embargo, el grupo con MA tenía un promedio de edad el 13% mayor que el grupo sin esa característica ($p = 0,008$). Los factores edad, sexo, prevalencia de hipertensión arterial, índice de masa corporal, uso de estatina o insulina, perfil lipídico o glucídico no se mostraban diferentes entre ambos grupos.

Al compararse el mismo grupo con MA con los pacientes sin MA con edad superior a 55 años, fue posible una comparación entre grupos con edades semejantes. Una vez más, no hubo ninguna diferencia en la transferencia lipídica hacia HDL (Tab. 3).

Con la utilización de la razón microalbuminuria/creatininuria como variable continua, se estableció la correlación de Spearman con todas las variables continuas analizadas. De ese modo, una mayor razón microalbuminuria/creatininuria se correlacionó positivamente con edad y hemoglobina glicosilada, mientras que tuvo correlación negativa con transferencia de colesterol libre (tab. 4).

Con relación al uso o no de insulino terapia, los grupos presentaban edad, sexo, índice de masa corporal, prevalencia de hipertensión arterial, perfil lipídico y glucídico semejantes. Ambos grupos presentaban, aún, una frecuencia de uso de estatinas también semejantes. El uso de insulina fue un factor que se relacionó a una transferencia el 10% menor de fosfolípidos hacia HDL ($p = 0,018$) (fig. 1).

En lo que toca al uso o no de estatina, se percibió que el grupo tratado con esa medicación reveló una transferencia significativamente menor de todos los lípidos hacia HDL, si comparado al que no usaba estatina (fig. 2). Entre los pacientes con DM2 que usan estatina, la transferencia de ésteres de colesterol, fosfolípidos, triglicéridos y colesterol libre resultó, respectivamente, el 41%, 12%, 39% y el 33% menor que el grupo con DM2 que no usaba dicha medicación.

Tabla 3 – Transferencia de lípidos de la LDE hacia HDL en DM-2 en cuanto al diagnóstico de microalbuminuria tras ajuste para edad

	DM con microalbuminuria (n = 9)	DM sin microalbuminuria (n = 13)	p
TCE (%)	4,5±1,6	4,4±2,5	0,521
TFL (%)	25,2±3,3	25,8±4,1	0,887
TTG (%)	4,7±1,7	5,0±2,5	0,887
TCL (%)	8,4±2,6	9,1±2,9	0,594

TCE - porcentaje de transferencia de ésteres de colesterol da LDE hacia la HDL; TFL - porcentaje de transferencia de fosfolípidos de la LDE hacia la HDL; TTG - porcentaje de transferencia de triglicéridos de la LDE hacia la HDL; TCL - porcentaje de transferencia de colesterol libre de la LDE hacia la HDL.

Discusión

La contribución de las proteínas asociadas a la HDL al proceso de generación, madurez y transporte reverso de colesterol ha sido extensivamente estudiada. La CETP modula los niveles de HDL, así como su composición, al mediar el intercambio de lípidos neutros (colesterol esterificado y triglicéridos) entre HDL y lipoproteínas ricas en triglicéridos, además de auxiliar en la transferencia de fosfolípidos hacia la HDL. La CETP se muestra capaz también de liberar apolipoproteínas a partir de la HDL cuando en presencia de ácidos grasos^{31,32}. La propia PLTP también puede liberar apolipoproteínas de la HDL³³. El colesterol éster presente en la HDL puede tener dos fuentes: 1. la esterificación de colesterol libre de la HDL y 2. desde el colesterol éster de otra lipoproteína^{34,35}.

La PLTP actúa en la transferencia de fosfolípidos de superficie hacia HDL y eventualmente en el desplazamiento de apo AI de las superficies de las partículas^{36,37}. Las pre-B-HDL pequeñas y pobres en lípidos –un importante producto de la HDL mediado por la PLTP–, actúan como aceptores iniciales de colesterol libre^{38,39}. La apo E (y no la apo AI) se revela capaz de convertir PLTP inactiva en su forma activa⁴⁰. Esta es una importante característica a acordarse, visto que la LDE no posee apo y adquiere la apo E cuando en contacto con la sangre.

Tabla 4 – Asociaciones (coeficientes de correlación de Spearman) de la microalbuminuria con edad, perfil lipídico, control glucémico, datos antropométricos y transferencias de lípidos de la LDE hacia HDL

Variables	R	P
Edad (años)	0,45	0,040
CT (mg/dl)	-0,02	0,918
LDLc (mg/dl)	-0,08	0,716
HDLc (mg/dl)	-0,19	0,413
TG (mg/dl)	0,26	0,260
GA (mg/dl)	0,20	0,388
HbA1c (%)	0,53	0,013
TCE (%)	-0,005	0,982
TFL (%)	-0,08	0,710
TTG (%)	-0,12	0,609
TCL (%)	-0,50	0,024
IMC (kg/m ²)	0,29	0,204
CA (cm)	0,15	0,582
Tiempo de diabetes (años)	0,32	0,160

CT - colesterol total; LDL - colesterol de lipoproteína de baja densidad; HDLc - colesterol de lipoproteína de alta densidad; TG - triglicéridos; GA - glucemia de ayuno; IMC - índice de masa corporal; HbA1c - hemoglobina glicosilada; TCE - porcentaje de transferencia de ésteres de colesterol da LDE para HDL; TFL - porcentaje de transferencia de fosfolípidos da LDE para HDL; TTG - porcentaje de transferencia de triglicéridos de la LDE hacia HDL; TCL - porcentaje de transferencia de colesterol libre da LDE hacia HDL; CA - circunferencia abdominal.

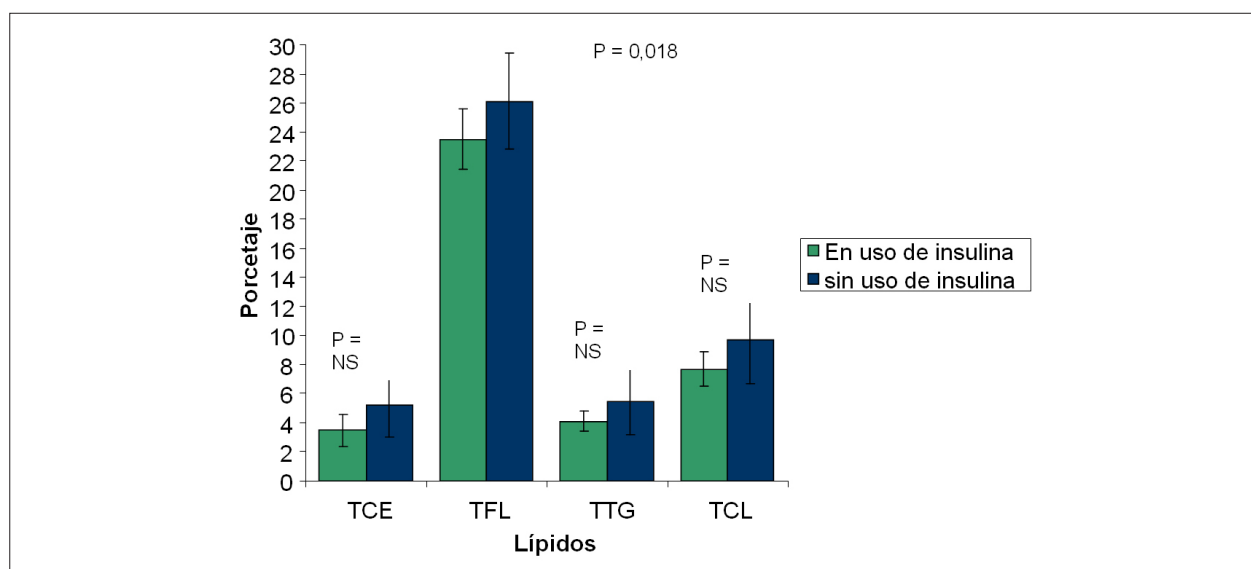


Figura 1 - Comparación de transferencias de lípidos entre diabéticos usuarios y no usuarios de insulino terapia. TCE - porcentaje de transferencia de ésteres de colesterol de la LDE para HDL; TFL - porcentaje de transferencia de fosfolípidos de la LDE hacia HDL; TTG - porcentaje de transferencia de triglicéridos de la LDE hacia HDL; TCL - porcentaje de transferencia de colesterol libre de la LDE hacia HDL; NS - no significativo.

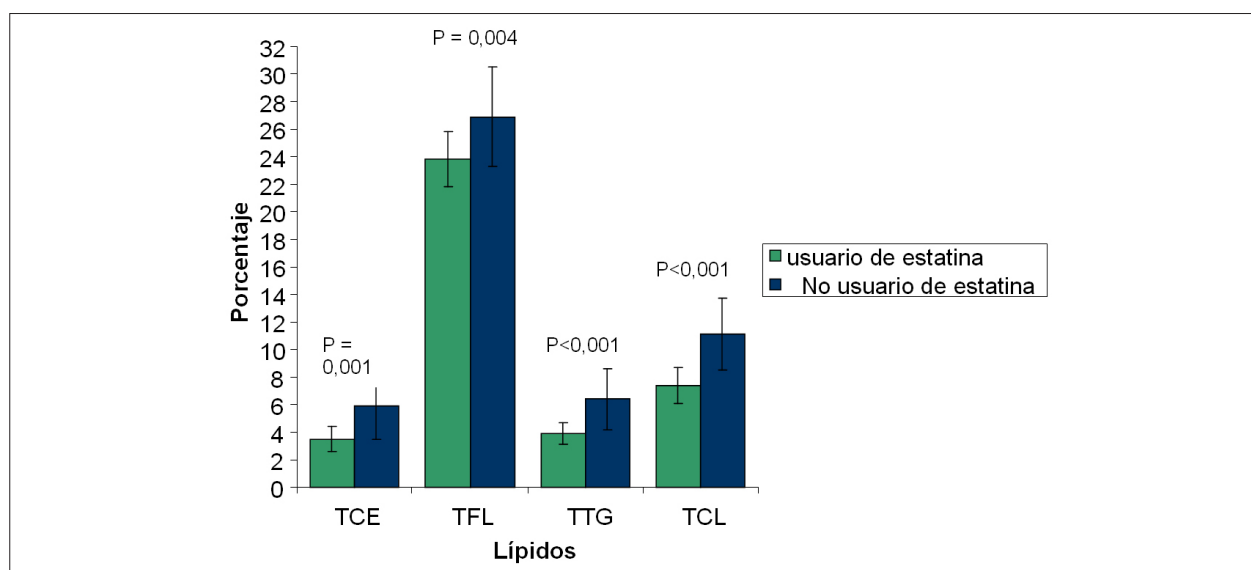


Figura 2 - Comparación de transferencias de lípidos entre diabéticos usuarios y no usuarios de estatina. TCE - porcentaje de transferencia de ésteres de colesterol de la LDE hacia HDL; TFL - porcentaje de transferencia de fosfolípidos de la LDE hacia HDL; TTG - porcentaje de transferencia de triglicéridos de la LDE hacia HDL; TCL - porcentaje de transferencia de colesterol libre de la LDE hacia HDL.

El presente estudio abre la posibilidad de estimarse, por medio de una única metodología, la actividad aceptora de la HDL de todos los lípidos de forma simple y ágil. Con ello, fue posible demostrar que existe mayor captación de fosfolípidos y colesterol libre por la HDL en los pacientes diabéticos en comparación con individuos control.

El hallazgo de mayor transferencia de lípidos de superficie en los pacientes diabéticos sugiere mayor actividad de PLTP, lo que está de acuerdo con algunos resultados registrados en la literatura^{13,14}. Estudios previos muestran también incremento de

las tasas de transferencia de colesterol éster plasmático^{15,16}.

La relación entre microalbuminuria y dislipidemia en pacientes con diabetes mellitus ha sido bien explorada. En este estudio, sin embargo, no se encontraron diferencias en la transferencia de lípidos hacia HDL entre pacientes con DM2, con o sin microalbuminuria. En la literatura, la actividad de CETP no se mostró alterada en pacientes con microalbuminuria¹⁷.

Entre los pacientes usuarios de insulina, la transferencia de fosfolípidos hacia HDL resultó menor en relación a los no

usuarios, sin que hubiera alteración en la transferencia de los demás lípidos. La PLTP constituye la principal responsable por la transferencia de fosfolípidos hacia la HDL y auxilia con menor intensidad la transferencia de colesterol libre hacia esta lipoproteína. El presente estudio sugiere, por tanto, una posible correlación entre insulina y actividad de PLTP. En la literatura, aunque no hay unanimidad, la mayoría de los estudios que se propusieron a investigar la relación entre insulina y actividad de PLTP muestran una inhibición de ésta última²²⁻²⁶.

La estatina, por su parte, redujo la captación de todos los lípidos por la HDL. La disminución de la actividad de CETP con uso de estatina ha sido observada en otros estudios. Ella logra dicha disminución a través de tres mecanismos: 1. reducción de la masa de CETP¹⁸; 2. reducción de las lipoproteínas con las que la HDL interactúa¹⁹; y también 3. posiblemente por reducción en la expresión del gen CETP²⁰. Un subestudio del estudio DALI evidenció que el tratamiento con estatina resulta capaz de reducir la actividad de PLTP, aunque aumenta la masa de PLTP²¹.

En este estudio, se evaluó la actividad aceptora de lípidos de la HDL. El otro sentido del intercambio de lípidos entre las lipoproteínas no se midió: no se sabe qué porcentaje de lípidos de la HDL se transfirió para las demás lipoproteínas. Como una paradoja, la actividad aceptora de la HDL se asoció directamente a factores de riesgo de aterosclerosis, mientras que el uso de estatinas redujo la transferencia de todos los lípidos hacia HDL. Una hipótesis para justificarse el hecho reside en que la HDL con características de transferencias más compatibles con buenos marcadores estaría asociada a la menor adquisición y pérdida de lípidos, lo que la caracteriza, por lo tanto, como una HDL más estable.

Este estudio acrecienta datos al complejo y todavía no totalmente aclarado mecanismo de intercambio de lípidos entre lipoproteínas. A la vez, permite la identificación de la asociación del uso de insulina y estatinas con aspectos funcionales de la HDL, así como sus proteínas de transferencia.

Limitaciones del estudio

La diabetes mellitus es una patología que puede presentar un espectro clínico bastante amplio. En este sentido, se intentó uniformizar la población estudiada, con la exclusión no sólo de pacientes diabéticos bajo tratamiento exclusivamente no farmacológico, sino también de aquellos que presentarían evidencias de insuficiencia renal o macroalbuminuria.

A pesar de ello, se reconoce como limitación al estudio un relativo grado de heterogeneidad de la población de los diabéticos estudiados: algunos presentan enfermedad más avanzada o más asociada a comorbidades que otros. Además de eso, se observó el uso de insulina, estatina o antihipertensivos en parte de la población estudiada.

Idealmente, se debería proceder a la suspensión de medicaciones que interfirieran en el metabolismo lipídico o en la microalbuminuria. El hecho de que no se haya realizado los análisis lipídicos tras un período de discontinuación de la estatina se debió a la comprensión de que ocurriría un descontrol transitorio del perfil lipídico en una población con factores de riesgo cardiovascular, sin que ningún beneficio pudiera provenir de dicha suspensión. Raciocinio semejante explica que no se hayan suspendido antihipertensivos o hipoglucemiantes de los pacientes.

Potencial conflicto de intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de financiación

El presente estudio fue financiado por el Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) y por la Fundación de Amparo a la Investigación del Estado de São Paulo (FAPESP).

Vinculación académica

Este artículo forma parte de tesis de doctorado de Gilson Soares Feitosa-Filho, por el Programa de Postgrado en Cardiología del InCor-HCFMUSP.

Referencias

1. Barrett-Connor E, Grundy SM, Holdbrook MJ. Plasma lipids and diabetes mellitus in an adult community. *Am J Epidemiol.* 1982; 115: 657-63.
2. Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. Departamento de Aterosclerose/SBC. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 88 (supl. 1): 2-19.
3. Goldberg RB, Mellies MJ, Sacks FM, Mayé LA, Howard BV, Howard WJ, et al. Cardiovascular events and their reduction with pravastatin in diabetic and glucose-intolerant myocardial infarction survivors with average cholesterol levels: subgroup analyses in the cholesterol and recurrent events (CARE) trial. *The Care Investigators. Circulation.* 1998; 98: 2513-9.
4. Collins R, Armitage J, Parish S, Sleight P, Peto R. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2003; 361: 2005-16.
5. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004; 364:685-96.
6. Mattock MB, Morrish NJ, Viberti G, Keen H, Fitzgerald AP, Jackson G. Prospective study of microalbuminuria as predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes.* 1992; 41: 736-41.
7. Mattock MB, Barnes DJ, Viberti G, Keen H, Burt D, Hughes JM, et al. Microalbuminuria and coronary heart disease in NIDDM: an incidence study. *Diabetes.* 1998; 47: 1786-92.
8. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004; 95: 764-72.
9. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res.* 2006; 98: 1352-64.

10. Lagrost L, Athias A, Gambert P, Lallemand C. Comparative study of phospholipid transfer activities mediated by cholesteryl ester transfer protein and phospholipid transfer protein. *J Lipid Res.* 1994; 35: 825-35.
11. Huuskonen J, Olkkonen VM, Jauhiainen M, Ehnholm C. The impact of phospholipid transfer protein (PLTP) on HDL metabolism. *Atherosclerosis.* 2001; 155: 269-81.
12. O'Brien KD, Vuletic S, McDonald TO, Wolfbauer G, Lewis K, Tu AY, et al. Cell-associated and extracellular phospholipid transfer protein in human coronary atherosclerosis. *Circulation.* 2003; 108: 270-4.
13. Desrumaux C, Athias A, Bessède G, Vergès B, Farnier M, Perségol L, et al. Mass concentration of plasma phospholipid transfer protein in normolipidemic, type IIa hyperlipidemic, type IIb hyperlipidemic, and non-insulin-dependent diabetic subjects as measured by a specific ELISA. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 266-75.
14. Riemens S, van Tol A, Sluiter W, Dullaart R. Elevated plasma cholesteryl ester transfer in NIDDM: relationships with apolipoprotein B-containing lipoproteins and phospholipid transfer protein. *Atherosclerosis.* 1998; 140: 71-9.
15. Bagdade JD, Lane JT, Subbiah PV, Otto ME, Ritter MC. Accelerated cholesteryl ester transfer in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 1993; 104: 69-77.
16. Elchebly M, Porokhov B, Pulcini T, Berthezene F, Ponsin G. Alterations in composition and concentration of lipoproteins and elevated cholesteryl ester transfer in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Atherosclerosis.* 1996; 123: 93-101.
17. Kahri J, Groop PH, Elliott T, Viberti T, Taskinen MR. Plasma cholesteryl ester transfer protein and its relationship to plasma lipoproteins and apolipoprotein A-I-containing lipoproteins in IDDM patients with microalbuminuria and clinical nephropathy. *Diabetes Care.* 1994; 17: 412-9.
18. Ahnadi CE, Berthezene F, Ponsin G. Simvastatin-induced decrease in the transfer of cholesterol esters from high density lipoproteins to very low and low density lipoproteins in normolipidemic subjects. *Atherosclerosis.* 1993; 99: 219-28.
19. Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia: preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 189-97.
20. Jiang XC, Agellon LB, Walsh A, Breslow JL, Tall A. Dietary cholesterol increases transcription of the human cholesteryl ester transfer protein gene in transgenic mice: dependence on natural flanking sequences. *J Clin Invest.* 1992; 90: 1290-5.
21. Dallinga-Thie GM, van Tol A, Hattori H, Rensen PC, Sijbrands EJ. Plasma phospholipid transfer protein activity is decreased in type 2 diabetes during treatment with atorvastatin: a role for apolipoprotein E? *Diabetes.* 2006; 55: 1491-6.
22. Kaser S, Foger B, Ebenbichler CF, Kirchmair R, Gander R, Ritsch A, et al. Influence of leptin and insulin on lipid transfer proteins in human hepatoma cell line, HepG2. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001; 25: 1633-9.
23. Arii K, Suehiro T, Yamamoto M, Ito H, Hashimoto K. Suppression of plasma cholesteryl ester transfer protein activity in acute hyperinsulinemia and effect of plasma nonesterified fatty acid. *Metabolism.* 1997; 46: 1166-70.
24. Sutherland WH, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Pratt H, Tillmann HC, Tillman HC. The effect of acute hyperinsulinemia on plasma cholesteryl ester transfer protein activity in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and healthy subjects. *Metabolism.* 1994; 43: 1362-6.
25. Riemens SC, van Tol A, Sluiter WJ, Dullaart RP. Plasma phospholipid transfer protein activity is lowered by 24-h insulin and acipimox administration: blunted response to insulin in type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 1999; 48: 1631-7.
26. Riemens SC, van Tol A, Sluiter WJ, Dullaart RP. Plasma phospholipid transfer protein activity is related to insulin resistance: impaired acute lowering by insulin in obese Type II diabetic patients. *Diabetologia.* 1998; 41: 929-34.
27. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18: 499-502.
28. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes -- 2008. *Diabetes Care.* 2008; 31 (Suppl. 1): S12-54.
29. Maranhão RC, Cesar TB, Pedrosa-Mariani SR, Hirata MH, Mesquita CH. Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling low-density lipoprotein. *Lipids.* 1993; 28: 691-6.
30. Ginsburg GS, Small DM, Atkinson D. Microemulsions of phospholipids and cholesterol esters: protein-free models of low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 1982; 257: 8216-27.
31. Liang HQ, Rye KA, Barter PJ. Dissociation of lipid-free apolipoprotein A-I from high density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1994; 35: 1187-99.
32. Clay MA, Newnham HH, Forte TM, Barter PJ. Cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase activity promote shedding of apo A-I from HDL and subsequent formation of discoidal HDL. *Biochim Biophys Acta.* 1992; 1124: 52-8.
33. Pussinen P, Jauhiainen M, Metso J, Tyynela J, Ehnholm C. Pig plasma phospholipid transfer protein facilitates HDL interconversion. *J Lipid Res.* 1995; 36: 975-85.
34. Barter PJ, Lally JL. In vitro exchanges of esterified cholesterol between serum lipoprotein fractions: studies of humans and rabbits. *Metabolism.* 1979; 28: 230-6.
35. Barter PJ, Jones ME. Kinetic studies of the transfer of esterified cholesterol between human plasma low and high density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1980; 21: 238-49.
36. Albers JJ, Wolfbauer G, Cheung MC, Day JR, Ching AF, Lok S, et al. Functional expression of human and mouse plasma phospholipid transfer protein: effect of recombinant and plasma PLTP on HDL subspecies. *Biochim Biophys Acta.* 1995; 1258: 27-34.
37. Lusa S, Jauhiainen M, Metso J, Somerharju P, Ehnholm C. The mechanism of human plasma phospholipid transfer protein-induced enlargement of high-density lipoprotein particles: evidence for particle fusion. *Biochem J.* 1996; 313 (Pt 1): 275-82.
38. von Eckardstein A, Jauhiainen M, Huang Y, Metso J, Langer C, Pussinen P, et al. Phospholipid transfer protein mediated conversion of high density lipoproteins generates pre beta 1-HDL. *Biochim Biophys Acta.* 1996; 1301: 255-62.
39. Castro GR, Fielding CJ. Early incorporation of cell-derived cholesterol into pre-beta-migrating high-density lipoprotein. *Biochemistry.* 1988; 27: 25-9.
40. Janis MT, Metso J, Lankinen H, Strandin T, Olkkonen VM, Rye KA, et al. Apolipoprotein E activates the low-activity form of human phospholipid transfer protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 331: 333-40.