



LIPOTOXICITAT I MALALTIA MICROVASCULAR: CONTRIBUCIÓ AL DANY MIOCÀRDIC EN MODELS CLÍNICS I ANIMALS DE DIABETIS

Núria Alonso-Pedrol

IIGTiP Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol

Josep Julve Gil

IRHSP Institut de Recerca Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

1. Resum

La diabetis *mellitus* (DM) i la insuficiència cardíaca (IC) són dues entitats polifacètiques que impliquen una alta morbiditat i mortalitat quan ambdues afeccions coexisteixen. La incidència d'insuficiència cardíaca està incrementada en pacients amb diabetis *mellitus* de tipus 1 (DM1) i de tipus 2 (DM2). Aquesta cardiomiopatia es denomina *cardiomiopatia diabètica* (CMD). No es disposa de biomarcadors específics per fer-ne un diagnòstic precoç ni tampoc per predir-ne l'evolució clínica.

Objectius específics

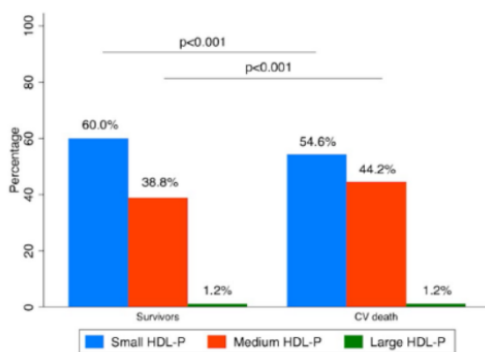
1. Analitzar, en una cohort de pacients ambulatoris amb insuficiència cardíaca crònica (amb i sense diabetis *mellitus*), el valor pronòstic (mortalitat i reingrés per insuficiència cardíaca) de paràmetres clínics, antropomètrics i bioquímics, inclòs el perfil lipídic.
2. En pacients amb diabetis *mellitus* de tipus 1 (DM1) sense insuficiència cardíaca clínica, analitzar l'associació de la disfunció miocardiàca amb paràmetres clínics, antropomètrics i bioquímics (anàlisi de perfil de lipoproteïnes i anàlisi lipidòmica) així com amb la presència i grau de malaltia microvascular renal i retinal.
3. Analitzar, en pacients amb diabetis *mellitus* de tipus 2 (DM2) sense insuficiència cardíaca clínica, l'associació de la disfunció miocardiàca (diastòlica o sistòlica) amb els paràmetres següents:
 - a) Clínics, antropomètrics i bioquímics (inclosa una anàlisi del perfil de lipoproteïnes sèriques i del lipidoma).
 - b) La presència i grau de malaltia microvascular (renal i retinal).
4. En un subgrup de pacients amb DM2 amb i sense disfunció miocardiàca, analitzar l'associació de paràmetres clínics, antropomètrics i bioquímics amb el dipòsit de greix ectòpic cardíac (epicardiàc i intramiocardiàc) així com amb la malaltia microvascular.

2. Resultats

Objectiu 1

A) *Anàlisi de la contribució del perfil lipoproteic avançat analitzat per ressonància magnètica nuclear amb espectroscòpia sobre la mortalitat cardiovascular en pacients que presenten un diagnòstic d'insuficiència cardíaca crònica.*

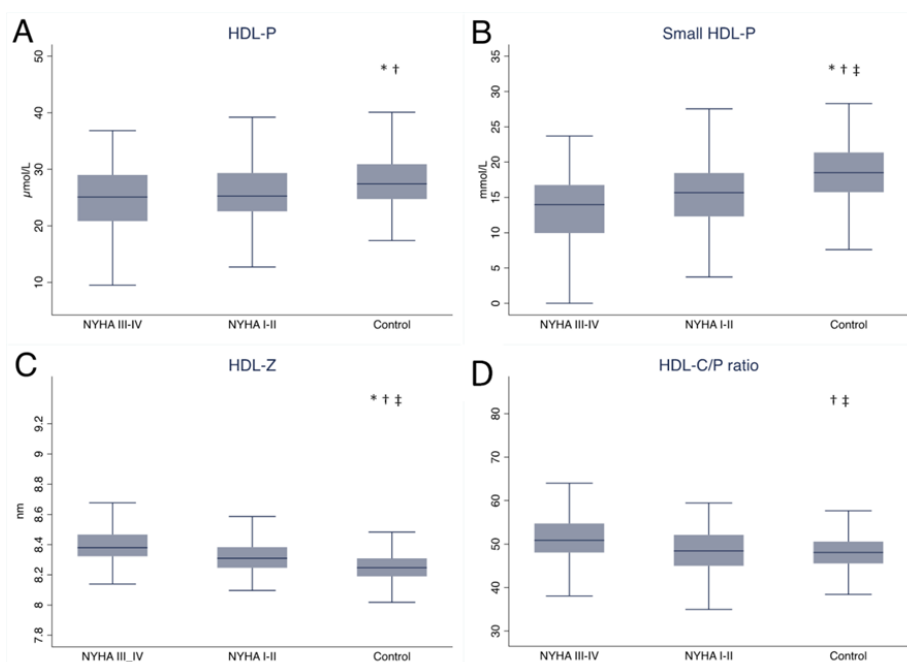
Es van incloure 422 pacients. Es va dur a terme un seguiment durant una mitjana de 4,1 (0-8) anys. La mort per causa cardiovascular es va produir en 120 (30,5 %) pacients. La mitjana de la mida de la lipoproteïna HDL (HDL-Sz) va ser més alta en els pacients que havien mort per causa cardiovascular (CV) en comparació amb els supervivents (8,39 nm vs. 8,31 nm, $p < 0,001$). Aquest canvi de mida es va deure a una reducció del percentatge en la concentració plasmàtica de les partícules HDL petites (54,6 % vs. 60 % per mort per causa CV vs. viu; $p < 0,001$). La proporció HDL-C/P va ser superior en el grup de mortalitat per causa CV (51,0 vs. 48,3, $p < 0,001$). La mida de les partícules HDL (HDL-Sz) i el contingut de colesterol per partícula d'HDL (HDL-C/P) es van associar significativament a la mort per causa CV després de l'anàlisi de regressió multivariable (HR 1,22 [IC 95 % 1,01-1,47], $p = 0,041$ i HR 1,04 [IC 95 % 1,01-1,07], $p = 0,008$ respectivament). La mida de les partícules HDL (HDL-Sz) i el contingut en colesterol per partícula HDL (HDL-C/P) són predictors independents de la mort per causa CV en pacients amb IC crònica.



B) *Anàlisi de les diferències en el perfil de lipoproteïnes entre els pacients ambulatoris amb insuficiència cardíaca crònica i un grup de control sense insuficiència cardíaca.*

Es van comparar 429 pacients ambulatoris amb IC crònica amb 428 controls aparellats per edat, sexe, diabetis i tractament amb estatines. Els pacients amb IC crònica presentaven concentracions sèriques de colesterol total més baixes i també era més

baixa la concentració sèrica de partícules LDL (1.115 vs. 1.352 nmol/L, $p < 0,001$) i HDL (25,7 vs. 27,9 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,001$). Aquesta diferència s'explicava principalment per la disminució en la concentració de la subfracció de les LDL petites (635,4 vs. 792,2 nmol/L, $p < 0,001$) i HDL petites (15,2 vs. 18,6 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,001$). La mida mitjana de les partícules VLDL, LDL i HDL va ser significativament superior en pacients amb IC enfront dels controls. Totes les diferències relacionades amb l'HDL dels controls van persistir després de l'ajust per a la classe funcional de la dispnea de la New York Heart Association o l'índex de massa corporal. Es va observar una forta correlació negativa entre els biomarcadors cardíacs d'insuficiència cardíaca (pèptid natriurètic N-terminal i ST2) i la concentració sèrica de les partícules LDL i HDL, així com amb la concentració de les subfraccions de mida petita de les HDL.

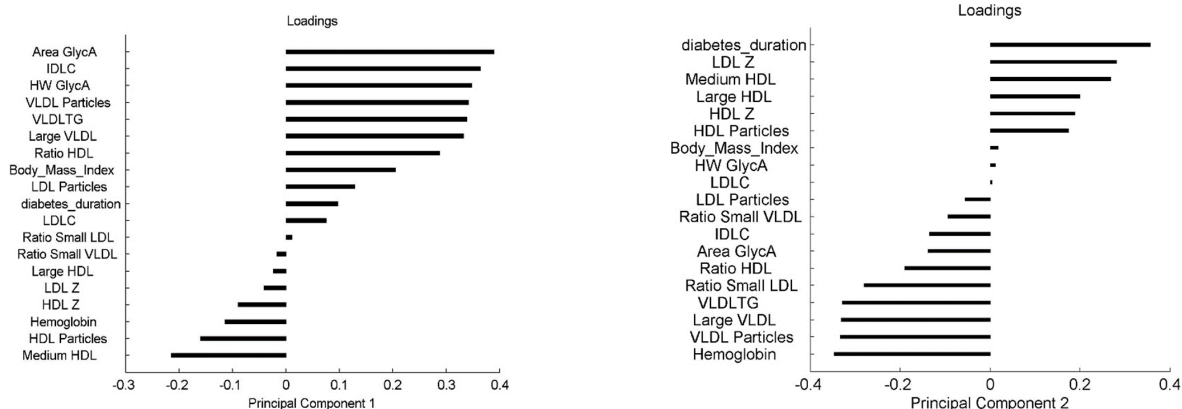


Dades descriptives de la concentració de les diferents subfraccions de la molècula HDL així com del seu contingut en colesterol en els subjectes amb i sense insuficiència cardíaca.

Objectiu 2

Es van analitzar 304 subjectes amb DM1 procedents d'una cohort de subjectes danesos amb DM1 (estudi *Thousand & One*) (54 % dones); $n = 154$ amb disfunció miocàrdica subclínica (DMS) ($61,3 \pm 11,7$ anys) i $n = 150$ sense DMS ($60,6 \pm 11,1$ anys), aparellats per edat, sexe i HbA1c, tots ells sense malaltia cardiovascular prèvia

coneguda. A tots se'ls va fer un ecocardiograma transtoràctic i una anàlisi per ressonància magnètica amb espectroscòpia del perfil lipoproteic avançat (Liposcale®) i de la concentració de proteïnes glicosilades determinada a partir dels enllaços entre galactosamina, glucosamina i àcid siàlic units a proteïnes plasmàtiques (GlycA). Dels 154 subjectes amb DMS, 146 van presentar disfunció diastòlica i 18 sistòlica. En comparació amb els subjectes sense DMS, els subjectes amb DMS van presentar més durada de la diabetis ($p = 0,005$), més IMC ($p = 0,013$), més concentració sèrica de NT-proBNP ($p = 0,001$), més pressió arterial sistòlica ($p < 0,001$), més albuminúria ($p < 0,001$) i un percentatge més alt de retinopatia avançada ($p < 0,001$). El model de classificació supervisada va permetre identificar un patró molecular específic associat a la DMS, amb una capacitat per discriminar els pacients diabètics amb DMS de la resta d'individus sense malaltia CV, de manera modesta però significativa amb relació a l'atzar (àrea sota la corba d'anàlisi ROC 0,63 , $p < 1,1801e-012$). El PLS-DA va mostrar que tant les lipoproteïnes riques en triglicèrids —VLDL (partícules VLDL totals, contingut en triglicèrids i VLDL grans) i IDL (el seu contingut en colesterol)—, així com la concentració sèrica de GlycA, contribueixen de manera significativa a explicar la presència de DMS.



Objectius 3 i 4

La previsió inicial del projecte era reclutar 300 pacients amb DM2 procedents de consultes externes. Els criteris d'inclusió dels pacients amb DM2 del projecte (absència de tractament amb insulina, control glucèmic amb HbA1c entre 6,5 % i 8,5 %, absència d'antecedents de malaltia cardiovascular) han dificultat que aquests pacients es poguessin reclutar al nostre centre hospitalari. A aquest perfil de pacient el visita habitualment el metge de capçalera al centre d'atenció primària. Per aquest motiu,

s'han fet diverses sessions amb diferents centres d'atenció primària de referència de l'hospital per demanar-los la seva col·laboració en el reclutament de pacients, ja que el perfil de pacient que compleix els criteris d'inclusió se sol visitar als centres d'atenció primària perquè es tracta de pacients amb una DM no complicada i amb un tractament mèdic menys complex. La dificultat en la inclusió d'aquest nombre elevat de pacients, accentuada per l'epidèmia de la COVID-19, ha estat el motiu pel qual ens hem replantejat fer l'estudi amb un nombre més reduït de pacients. Finalment, s'ha optat per reclutar un nombre més petit de pacients ($n = 65$) i fer-los a tots un estudi més ampli de la patologia cardíaca i hepàtica.

S'ha fet una anàlisi preliminar a un grup de 40 pacients dels 65 que s'han reclutat. Les característiques basals d'aquests pacients amb DM2 són les següents: tenen una edat mitjana de 63,6 anys (46,6-75,1), i hi ha 27 dones i 38 homes. D'acord amb la classe funcional de la dispnea de la classificació de la New York Heart Association (NYHA), el 95 % és de classe I i el 5 % restant és de classe II. Els paràmetres hemodinàmics d'aquests pacients mostren una ritme cardíac mitjà de 74 ± 9 batecs per minut, una pressió sistòlica de 135 (97-171) mmHg i diastòlica de 81 (64-102) mmHg; tots estan en ritme sinusal. Els paràmetres cardíacs obtinguts per ecocardiografia mostren, entre altres paràmetres, una distància entre aurícula esquerra i aurícula pulmonar mitjana de $36,5 \pm 4,8$ mm, una relació d'ones E/A de $0,8 \pm 0,2$, un temps de desacceleració de l'ona E de $211,8 \pm 43,3$ ms, una relació E/E' global de $8,1 \pm 2,1$, i un índex Tei de $0,6 \pm 0,1$. També es va trobar un valor mitjà de la fracció d'ejecció del ventricle dret de $56,2 \pm 8,2\%$ i del ventricle esquerre de $59,4 \pm 6,4\%$.

L'anàlisi del greix miocardiàc avaluat mitjançant ressonància magnètica per espectroscòpia mostra un valor mitjà en aquesta cohort d' $1,40 \pm 1,99\%$. S'ha trobat una correlació entre els triglicèrids intramiocardiàcs i la funció miocardiàca (índex Tei) i el temps de desacceleració de l'ona E, independentment de la presència d'altres paràmetres com l'edat o la hipertensió arterial. L'anàlisi del greix hepàtic ha mostrat un valor mitjà en aquesta cohort de $14,37 \pm 9,67\%$. No s'ha observat cap correlació entre el dipòsit del greix hepàtic i el dipòsit de greix cardíac a l'RMN amb espectroscòpia ($r = 0,092$, $p = 0,502$). No s'ha observat cap correlació entre les concentracions sèriques de colesterol total, c-HDL i c-LDL o triglicèrids amb el contingut de greix al teixit miocardiàc. Tampoc amb el contingut de greix hepàtic. El contingut de greix cardíac es correlaciona amb la funció del ventricle dret (millor FEVD i millor *strain* VD), però, en

canvi, hi ha un increment del volum de l'aurícula esquerra. El TAC de les artèries coronàries ha mostrat la presència de lesions coronàries en un 79 % dels casos, amb una estenosi significativa en un 26 % dels casos (DA: 55 %; Cx: 17,5 %; RCA: 17,5 %; LM: 2,5%). Un 29 % dels pacients presenta un patró de retenció a l'RMN compatible amb probable lesió microvascular cardíaca. A tots els pacients amb malaltia coronària significativa se'ls ha fet un test d'isquèmia, i el resultat ha estat negatiu en tots els casos. El percentatge de greix hepàtic a l'RMN amb espectroscòpia va mostrar una tendència a ser superior en aquells pacients amb malaltia coronària significativa en comparació amb aquells sense malaltia coronària significativa ($p = 0,061$).

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Objectiu 1

Els estudis efectuats han mostrat que la subfracció de lipoproteïnes analitzades que més s'ha relacionat amb el pronòstic cardiovascular dels pacients amb insuficiència cardíaca crònica, així com també amb el grau d'insuficiència cardíaca, és la de les partícules HDL. En concret, amb el nombre de partícules d'HDL així com també amb el contingut en colesterol per partícula d'HDL. Aquestes troballes indiquen que les línies d'investigació futures s'haurien de centrar en els mecanismes pels quals la molècula HDL està implicada en la patogènia de la insuficiència cardíaca i també en possibles opcions terapèutiques de la insuficiència cardíaca relacionades amb la modificació de la molècula d'HDL.

Objectiu 2

Les variables del perfil metabolòmic que millor expliquen la presència de disfunció miocardiaca subclínica (DMS) en subjectes amb DM1 sense malaltia CV coneguda són aquelles relacionades amb les lipoproteïnes proaterogèniques riques en triglicèrids (VLDL i IDL) i el biomarcador proinflamatori GlycA. Els resultats obtinguts apunten a una possible implicació en la fisiopatologia de la DMS de la GlycA i de les lipoproteïnes riques en triglicèrids. Caldrà investigar en un futur la utilitat d'aquests paràmetres com a possibles biomarcadors de disfunció miocardiaca subclínica en els pacients amb DM1 i també investigar les possibles vies biològiques implicades en la possible relació de les lipoproteïnes riques en triglicèrids i la GlycA en la fisiopatologia de la disfunció miocardiaca. En aquest sentit, en els darrers dos anys s'ha disposat de dades en la

bibliografia científica que apunten a la implicació tant de les lipoproteïnes riques en triglicèrids com de la GlycA en el risc d'insuficiència cardíaca en la població general sense l'antecedent de la diabetis *mellitus*.

Objectius 3 i 4

S'ha trobat que el dipòsit de greix intramiocardiàc està relacionat amb la funció i les estructures miocardiàques. Al ventricle dret, el dipòsit de greix s'ha relacionat amb una millor funció ventricular, mentre que a l'aurícula esquerra s'ha relacionat amb un volum més gran d'aquesta. Es desconeixen els motius d'aquestes troballes. En un futur, caldrà investigar si les conseqüències del dipòsit de greix intramiocardiàc són diferents en funció de la seva localització anatòmica al miocardi. D'altra banda, s'ha observat un percentatge no negligible de pacients amb malaltia coronària significativa en el TAC de coronàries. Es tracta d'una població de subjectes amb un molt bon control de la DM (HbA1c mitjà de 6,7 %) amb una xifra mitjana de colesterol LDL de 112 mg/dl. Aquest fet remarca la importància d'assolir els nivells de control de c-LDL establerts per les diferents societats científiques en els pacients amb DM per tal de prevenir la malaltia CV, fins i tot en aquells pacients que presenten un bon control metabòlic i no mostren complicacions micro- o macrovasculars associades a la diabetis. Finalment, les troballes obtingudes remarquen que el contingut de greix en el fetge pot ser un marcador de més risc de malaltia coronària significativa, fins i tot en subjectes asimptomàtics. Aquesta troballa apunta, tal com descriu la bibliografia científica en els darrers anys, que el fetge gras en els pacients amb diabetis seria un marcador d'un risc més alt de malaltia CV. Per tant, en aquells pacients amb DM i fetge gras, seria de vital importància l'assoliment d'un bon control de tots els factors de risc CV, inclòs el colesterol LDL.

4. Bibliografia científica generada

Objectiu 1

1. Teis A, Cediell G, Amigó N, Julve J, Aranyó J, Andrés-Cordón J, Puig-Jové C, Castelblanco E, Gual-Capllonch F, Ferrer-Sistach E, Vallejo N, Juncà G, López-Ayerbe J, De Antonio M, Domingo M, Santiago-Vacas E, Codina P, Mauricio D, Lupón J, Alonso N, Bayes-Genis A.

Particle size and cholesterol content of circulating HDL correlate with cardiovascular death in chronic heart failure.

Sci Rep. 2021 Feb 4;11(1):3141. doi: 10.1038/s41598-021-82861-6.

2. Puig-Jové C, Castelblanco E, Falguera M, Hernández M, Soldevila B, Julián MT, Teis A, Julve J, Barranco-Altirriba M, Franch-Nadal J, Puig-Domingo M, Ortega E, Amigó N, Alonso N, Mauricio D.

Advanced lipoprotein profile in individuals with normal and impaired glucose metabolism.

Rev Esp Cardiol (Engl Ed). 2021 Mar 27:S1885-5857(21)00073-6 (en anglès i castellà). doi: 10.1016/j.rec.2021.02.006. Publicació electrònica prèvia a la impressió. PMID: 33785266.

3. Teis A, Castelblanco E; Cediél G, Amigó N, Julve J, Ribalta J, Guardiola M, Franch J, Bermúdez-López M, Codina P, Lupón J, Mauricio D, Alonso N, Bayes-Genis A.

¹H-NMR spectroscopy lipoprotein profile in patients with chronic heart failure versus matched controls.

Enviat a Rev Esp Cardiol (en revisió).

Objectiu 2

Puig-Jové C, Julve J, Amigó N, Andersen HU, Mauricio D, Rossing P, Alonso N.

Contribution of the novel inflammatory biomarker GlycA and triglyceride-rich lipoproteins to the presence of subclinical myocardial dysfunction in patients with type 1 diabetes mellitus. Article redactat, pendent d'enviament.

Objectius 3 i 4

En el moment de redactar aquest resum s'estaven analitzant els resultats obtinguts i l'article està en fase de redacció.