



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDOCRINOLOGÍA Y
ENFERMEDADES METABOLICAS
HOSPITAL MILITAR “Dr. CARLOS ARVELO”

**MARCADORES DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y GROSOR DE ÍNTIMA
MEDIA CAROTÍDEO EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO.**

Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al Título de Especialista en
Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

Tutores:
Tanit Huerfano
Mary Lares

Laura Andreina Díaz Carrero.
Yulimar Del Valle Bolívar.

Caracas, agosto de 2012

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
VICERRECTORADO ACADÉMICO
SISTEMA DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA, HUMANÍSTICA Y TECNOLÓGICA (SICHT)

FECHA: 1 de agosto de 2012.

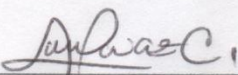
**AUTORIZACIÓN PARA LA DIFUSIÓN ELECTRONICA DE LOS TRABAJOS DE LICENCIATURA,
TRABAJO ESPECIAL DE GRADO, TRABAJO DE GRADO Y TESIS DOCTORAL DE LA
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.**

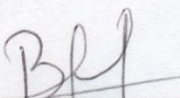
Nosotros: Laura Díaz Carrero y Yulimar Bolívar, autores del trabajo: Marcadores de disfunción endotelial y grosor íntima media carotídeo en pacientes con síndrome metabólico. Presentado para optar: al Título de Especialista en Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

Autorizamos a la Universidad Central de Venezuela, a difundir la versión electrónica de este trabajo, a través de los servicios de información que ofrece la Institución, sólo con fines de académicos y de investigación, de acuerdo a lo previsto en la Ley sobre Derecho de Autor, Artículo 18, 23 y 42 (Gaceta Oficial N° 4.638 Extraordinaria, 01-10-1993).

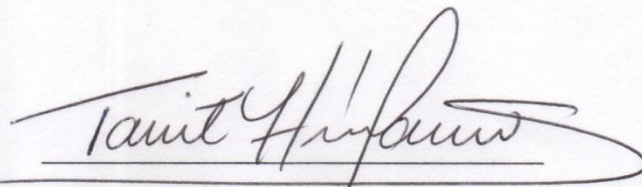
	<i>Si autorizo</i>
	<i>Autorizo después de 1 año</i>
	<i>No autorizo</i>
	<i>Autorizo difundir sólo algunas partes del trabajo</i>
<i>Indique:</i>	

Firma autores


C.I. N° 14.852.546
e-mail: lauradiazcarrero@yahoo.com

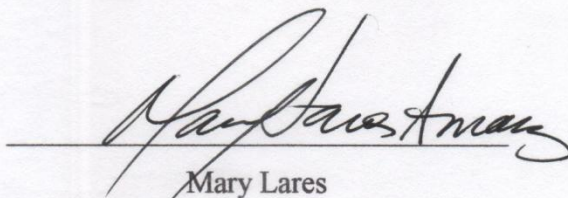

C.I. N° 15.014.035
e-mail: yulimar802009@hotmail.com

En caracas, 1 del mes de agosto de 2012.



Tanit Huérfano

Tutor



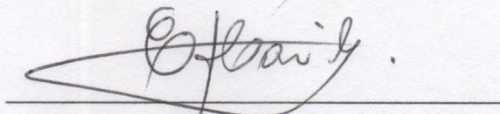
Mary Lares

Tutor



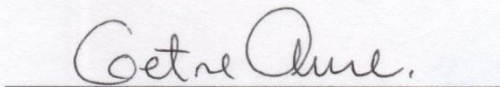
Sara Brito

Director de Curso



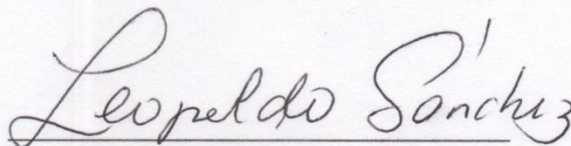
Eduardo Carrillo

Coordinador de curso



Gestne Aure

Asesor clínico



Leopoldo Sánchez

Asesor estadístico

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	18
DISCUSION.....	20
AGRADECIMIENTOS.....	22
REFERENCIAS.....	23
ANEXOS.....	26

*MARCADORES DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y GROSOR DE ÍNTIMA MEDIA
CAROTÍDEO EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO.*

Laura Díaz Carrero. CI 14.852.546. Sexo: Femenino. E mail: lauradiazcarrero@yahoo.com.
Telf.: 0414-8781338/ 0212-9925326. Dirección: Calle La Guairita, Res Jardín Tiuna, Chuao,
Caracas. Curso de especialización en Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

Yulimar del Valle Bolívar. CI 15.014.035. Sexo: Femenino. E mail: yulimar802009@hotmail.com. Telf.: 0414-8019034/ 0283-2415143. Dirección: Calle Igualdad #
8, Casco Viejo, El Tigre. Curso de especialización en Endocrinología y Enfermedades
Metabólicas.

Tutor: **Tanit Huerfano.** CI: 11.990.524. Sexo: Femenino. E mail: tanit_ccs@hotmail.com.
Telf.: 0414-2591952/ 0212 2371595. Dirección: Av. Francisco de Miranda, Edif. San Francisco,
Caracas. Especialista en Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

Tutor: **Mary Lares.** CI: 8.842.814. Sexo: Femenino. E mail: marylares@hotmail.com. Telf.
0416- 6203588/ 0212-2866132. Dirección: 2da avenida con 1era transversal Los Palos
Grandes Edif. La Pradera, Caracas. Biólogo, Doctorado en Biología

RESUMEN

Objetivo: Determinar marcadores de disfunción endotelial y grosor de íntima media carotídeo en pacientes con síndrome metabólico. Métodos: estudio transversal descriptivo, muestra: 31 pacientes con criterios de síndrome metabólico no tratados. Se realizó medición de circunferencia abdominal, IMC, presión arterial, determinación en plasma de glicemia, colesterol total, LDL, HDL, insulina, F2 isoprostanos (8-epi-FG2 α), óxido nítrico (ON), y medición de grosor íntima media carotídeo (GIMc). Se evaluaron las diferentes variables estudiadas en relación al GIMc. Resultados: Valores de óxido nítrico (13,57 \pm 4,2 μ M,) 8-epi-FG2 α (23,78 \pm 18,67 pg/ml) grosor íntima media carotídeo (0,91 \pm 0,32 mm). El 51% de los pacientes (n=16) presentaron GIMc mayor o igual a 0,9 mm (patológico) y 49% (n=15) menor a 0,9 mm (normal). Se observó una correlación positiva entre ON y GIMc (r = 0,8882) y entre 8-epi-FG2 α y GIMc (r = 0,8362). Los valores de ON fueron significativamente mayores (p < 0,035) en los pacientes con GIMc patológico, que en aquellos con GIMc normal. Conclusiones: El presente estudio demostró que la correlación positiva entre GIMc con niveles 8-epi-FG2 α y óxido nítrico apoya el planteamiento de que el estrés oxidativo y la disfunción endotelial son parte de la génesis de la aterosclerosis subclínica en pacientes con síndrome metabólico. Pudiendo indicar que el estrés oxidativo es una alteración más temprana que la caída en la biodisponibilidad de óxido nítrico. Valores elevados de óxido nítrico pueden aumentar la producción del radical libre peroxinitrito, provocando estrés oxidativo.

Palabras claves: síndrome metabólico, óxido nítrico, isoprostanos, grosor de íntima media carotídeo.

INTRODUCCION

El síndrome metabólico es una entidad clínica caracterizada por la agrupación de diferentes factores de riesgo que en conjunto aumentan la posibilidad de que un paciente presente un evento cardiovascular o desarrolle diabetes mellitus tipo 2. En las últimas décadas se ha convertido en una entidad ampliamente estudiada y tratada debido al crecimiento vertiginoso que ha tenido la obesidad a nivel mundial, ya que esta última es una condición clínica fundamental del síndrome metabólico.

Desde el punto de vista diagnóstico el síndrome metabólico incluye la presencia de obesidad más 2 de los siguientes factores: disglucemia, hipertrigliceridemia, HDL bajo o hipertensión arterial. Desde el punto bioquímico el estrés oxidativo y la disfunción endotelial han sido considerados elementos implicados en la génesis de dicha condición.

Por considerarse el síndrome metabólico una condición de elevado riesgo cardiovascular y desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, diversos estudios se han enfocado en evaluar las alteraciones bioquímicas que ocurren en esta entidad, así como determinar marcadores tempranos de enfermedad cardiovascular en dichos pacientes. Todo esto con la intención de poder aplicar medidas de intervención prematuramente para evitar la aparición del evento cardiovascular.

El presente trabajo se basó en evaluar marcadores de estrés oxidativo y disfunción endotelial, así como grosor de intima media carotídea en pacientes con síndrome metabólico no tratados.

Planteamiento del problema

El síndrome metabólico (SM), es la agrupación de varios factores que aumentan el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus (1). Se estima que alrededor de 20-25% de la población adulta mundial tiene síndrome metabólico, estos individuos tienen el doble de probabilidad de morir y el triple de probabilidad de presentar un infarto al miocardio o accidente vascular cerebral en comparación con personas sin este síndrome. Así mismo tienen 5 veces más probabilidad de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (2).

El estrés oxidativo y la disfunción endotelial, han sido mencionados como factores iniciales para el desarrollo de la aterosclerosis, el estrés oxidativo puede ser evaluado a través de la determinación de F2 isoprostanos, así como la disfunción endotelial puede evaluarse a través de la determinación de óxido nítrico. Basados en el conocimiento de que el síndrome metabólico es la suma de factores que juntos aumentan el riesgo cardiovascular, que el estrés oxidativo es un mecanismo común en las características que forman dicho síndrome, y que en estudios previos se ha encontrado en este grupo de pacientes un aumento del estrés oxidativo y disfunción endotelial, nos planteamos evaluar estos marcadores bioquímicos en una población de pacientes con síndrome metabólico no tratados y establecer su relación con aterosclerosis carotídea subclínica, evaluada a través de la medición del grosor de la intima media carotídea, que es considerada en la actualidad un factor independiente de riesgo cardiovascular.

Justificación e Importancia

El síndrome metabólico engloba hallazgos clínicos y bioquímicos que en conjunto aumentan el riesgo de aparición de eventos cardiovasculares y diabetes en un individuo. En la actualidad el estilo de vida en el que predominan las dietas hipercalóricas y el sedentarismo, se ha observado un crecimiento exponencial de la obesidad y con ello de las patologías asociadas a la misma, entre estas el síndrome metabólico. El estrés oxidativo puede ser una vía a través de la cual la obesidad, la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico permiten la aparición de la diabetes mellitus tipo 2 en humanos (3). Los marcadores de estrés oxidativo sistémico están elevados en pacientes con diabetes tipo 2 clínica (4), pero hay datos limitados que relacionan el grado de estrés oxidativo con la resistencia a la insulina en pacientes pre diabéticos (5), muchos de los cuales cursan con síndrome metabólico. Las investigaciones han sido impedidas por la disponibilidad limitada de biomarcadores de estrés oxidativo confiables para uso en estudios epidemiológicos (3). Muchos factores patológicos tales como la resistencia a la insulina, hiperuricemia, inflamación, hipoadiponectinemia y estrés oxidativo podrían favorecer una disminución en la biodisponibilidad de óxido nítrico. (6) Aunque algunos estudios han demostrado la asociación entre componentes del síndrome metabólico y el óxido nítrico los datos son contradictorios. Por tal razón resulta interesante evaluar en este grupo de pacientes factores que cada vez están más implicados en la fisiopatología del síndrome metabólico como son el estrés oxidativo y la disfunción endotelial.

Determinar marcadores de disfunción endotelial, estrés oxidativo y el grosor de íntima media carotídeo ha adquirido una importancia en las últimas décadas, sobre todo en pacientes sin evidencia clínica de aterosclerosis, pero que presentan factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipidemia, obesidad, es decir pacientes con síndrome metabólico. Así mismo dicha determinación bioquímica y del grosor de íntima media carotídeo permiten aumentar nuestro conocimiento respecto al síndrome metabólico y ampliar la gama de recursos para evaluación y/o pronóstico de riesgo de estas patologías en crecimiento de la población.

Antecedentes

Es conocido que la enfermedad cardiovascular aterosclerótica es la causa de muerte más frecuente en muchos países del mundo, incluyendo Venezuela, diferentes estudios indican que el proceso de aterosclerosis se inicia en la niñez y está relacionada, con factores como la elevación del colesterol total, del colesterol LDL y con la disminución del colesterol de la lipoproteína de alta densidad o colesterol HDL y la obesidad. (7).

Meigs y colaboradores plantean como otros investigadores que el estrés oxidativo puede ser una vía a través del cual la obesidad, la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico permiten la aparición de diabetes mellitus tipo 2 en humanos. Estos midieron 2 marcadores de estrés oxidativo en sujetos del estudio de Framingham, que fueron las concentraciones urinarias de 8-epi-FGF2 α y en plasma las concentraciones de mieloperoxidasa. La resistencia a la insulina estuvo positivamente asociada con estrés oxidativo sistémico, medido por el incremento en las concentraciones de 8-epi-FGF2 α /creatinina en orina entre los individuos sin diabetes en la comunidad estudiada. Estos datos provenientes de un gran estudio de corte comunitario es consistente con otros estudios in vitro y en modelos de roedores, la evidencia demuestra que el estrés oxidativo es una vía clave previa a la resistencia a la insulina. Desde esta perspectiva los datos muestran claramente una asociación positiva entre estrés oxidativo, resistencia a la insulina y prediabetes en humanos (3).

Urakawa y colaboradores investigaron en hombres japoneses la relación entre estrés oxidativo con obesidad y resistencia a la insulina, midiendo las concentraciones plasmáticas de 8-epi-FGF2 α y su relación con el índice de masa corporal, la grasa corporal, grasa visceral y subcutánea y con el clamp euglicémico hiperinsulinémico. Los resultados demostraron que los niveles de 8-epi-FGF2 α están relacionados con adiposidad y resistencia a la insulina en hombres (8).

Siervo y Bluck investigaron la asociación entre la producción de óxido nítrico y la sensibilidad a la insulina en sujetos obesos con y sin síndrome metabólico. Concluyeron que la producción de óxido nítrico fue menor en pacientes obesos con síndrome metabólico que los pacientes obesos sin síndrome metabólico y los sujetos sanos. Encontraron una asociación significativa entre la síntesis de óxido nítrico y la sensibilidad a la insulina. Esta asociación

sugiere un mecanismo estrecho de enlace entre la función endotelial y la señalización de la insulina (9).

O Leary y cols demostraron que el engrosamiento miointimal de las carótidas, visible con el Eco Doppler carotídeo, aportaba información respecto al riesgo de eventos tanto cerebrales como coronarios. La facilidad de acceso a estas arterias y su carácter no invasivo, ha convertido al Eco Doppler en un instrumento muy valioso para el estudio general de la aterosclerosis. Se ha determinado que valores superiores a 1,1 mm, no solo se asocian con la presencia de aterosclerosis en otros sistemas arteriales sino que son capaces de predecir riesgo cardiovascular (10).

Marco Teórico

La resistencia a la insulina y la obesidad son los principales factores fisiopatológicos que contribuyen al desarrollo del síndrome metabólico. (1). Clínicamente la resistencia a la insulina (RI) se define como la incompetencia de una determinada concentración de insulina para conseguir el control de la glicemia. Es una anomalía celular compleja que implica fundamentalmente al tejido adiposo, hígado y músculo esquelético. Además de la susceptibilidad genética, precisa de la presencia de otros factores ambientales (11,12).

El grupo de problemas y factores de riesgo asociado con el Síndrome Metabólico se determinó por primera vez en 1988. El Dr. Gerald Reaven sugirió que la resistencia a la insulina desempeñaba un papel central en el desarrollo de la diabetes tipo 2, la hipertensión y la enfermedad arterial cardiovascular. Llamando a este conjunto de anomalías "Síndrome X"(13). La descripción original del síndrome metabólico por Reaven consistió en obesidad, resistencia a la insulina, hipertensión, intolerancia a la glucosa o diabetes, hiperinsulinemia y dislipidemia caracterizada por concentraciones de triglicéridos elevados y HDL bajo. Todos los hallazgos descritos son factores de riesgo para aterosclerosis, y así el síndrome metabólico constituye un riesgo importante para el desarrollo de enfermedad arterial coronaria. Los hallazgos de obesidad/sobrepeso y resistencia a la insulina también constituyen un riesgo significativo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2. El riesgo para enfermedad arterial coronaria y diabetes con el síndrome metabólico es mucho mayor que la obesidad por sí sola. (14,15)

Los criterios diagnósticos de Síndrome Metabólico según la armonización entre IDF ((International Diabetes Federation), NHLBI (National Heart,Lung and Blood Institute) , AHA (American Heart Association), WHO (World Health Organization), IAS (International Atherosclerosis Society) y IASO (International Association for the Study of Obesity) incluyen tres de las cinco anormalidades descritas (en el ATP III e IDF) para calificar a un sujeto con síndrome metabólico: (16)

*Circunferencia de cintura \geq de 94 cm para hombres y \geq 88 cm para mujeres para la población latinoamericana (propuesto por el GLESMO- Grupo Latinoamericano de Estudio del Síndrome Metabólico)

1. Triglicéridos $>$ 150 mg/ dl o en tratamiento
2. HDL $<$ 40 mg/ dl en hombres y $<$ 50 mg/ dl en mujer (o en tratamiento)
3. PA \geq 135/ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo
4. Glicemia en ayunas $>$ 100 mg/ dl (en ese caso se sugiere la realización de 2 horas post-carga de 75 g de glucosa) o diagnóstico previo de DM.

El estrés oxidativo es reconocido actualmente como un hallazgo prominente de muchas enfermedades agudas y crónicas, incluyendo cáncer, enfermedad cardiovascular, enfermedad neurodegenerativa, enfermedad pulmonar, e incluso en el proceso normal de envejecimiento (17). Puede ser definido como un desbalance entre la producción de especies de oxígeno altamente reactivas (principalmente oxígeno y nitrógeno) y defensas antioxidantes contra su producción y acción. Los mecanismos que influyen en este desbalance incluyen activación de las vías de señalización de estrés, especialmente la vía de transcripción del factor nuclear kB (NF-kB) y los elementos de la cascada de señalización del factor nuclear kB (18). Los F2 isoprostanos son sustancias similares a la prostaglandina producidos in vivo independientemente de la enzima ciclooxigenasa, principalmente por peroxidación del ácido araquidónico inducido por radicales libres. Son un grupo de 64 componentes isoméricos en estructura a la FGF2 α derivada de la ciclooxigenasa, y son considerados los mejores biomarcadores del estado de estrés oxidativo y peroxidación lipídica in vivo disponibles actualmente. (17)

La disfunción y el daño vascular han demostrado estar asociados con deterioro de la función y el metabolismo del óxido nítrico endotelial (6). El óxido nítrico es un gas soluble sintetizado del aminoácido L-arginina por la enzima óxido nítrico sintetasa liberado por el endotelio vascular, con una vida media muy corta, transformándose en formas inactivas como el nitrito y el nitrato, siendo la oxihemoglobina y los radicales libres las principales moléculas que catalizan esta reacción. Es considerado un potente vasodilatador, por lo cual entre sus principales funciones esta regular el tono vascular, además de suprimir la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1,2) (VCAM) y de citoquinas inflamatorias. El óxido nítrico por tratarse de un gas inestable con una vida media de apenas 4-5segundos, no se disponen de métodos para su cuantificación directa, por lo tanto se ha utilizado la determinación de sus metabolitos estables nitritos y nitratos en plasma, como un índice de producción endógena de óxido nítrico (19).

Diversos estudios apoyan la teoría, que aún antes de que se presenten alteraciones morfológicas típicas de la aterosclerosis existe ya una alteración funcional del endotelio, como se demuestra por la menor actividad relajante dependiente del endotelio, debido a una disminución en la síntesis de óxido nítrico (20). Por otro lado, la disfunción endotelial y resistencia a la insulina suelen coexistir. En los estudios transversales, la disfunción endotelial está constantemente presente en los pacientes con resistencia a la insulina. Factores causales compartidas, como glucotoxicidad, lipotoxicidad, inflamación, estrés oxidativo y la interacción en múltiples niveles para crear relaciones recíprocas entre la resistencia a la insulina y la disfunción endotelial pueden ayudar a explicar la agrupación frecuente de alteraciones metabólicas y cardiovasculares (21).

Los cambios originados en la pared arterial por la aterosclerosis progresan lentamente en un largo periodo subclínico, caracterizado por daño endotelial y engrosamiento difuso de la íntima arterial. Estas fases iniciales de la enfermedad pueden diagnosticarse mediante ecografía con la medición del espesor íntima media arterial, especialmente a nivel carotideo. El grosor intima media carotideo (GIMc) es el factor de riesgo que más se asocia con la enfermedad cardiovascular en comparación con otros factores de riesgo tradicionales (22). Se considera patológico un valor mayor a 0.9 mm El grosor de intima media carotideo se incrementa cada año de vida en 0,01-0,02mm (23).

Objetivo general

Evaluar marcadores bioquímicos de disfunción endotelial, estrés oxidativo y su relación con el grosor de íntima media carotídeo en pacientes con síndrome metabólico.

Objetivos específicos

1. Determinar las concentraciones de F2 isoprostanos y óxido nítrico en plasma en pacientes con síndrome metabólico.
2. Medir el grosor de la íntima media carotídeo en pacientes con síndrome metabólico.
3. Establecer la relación entre las concentraciones de F2 isoprostanos y óxido nítrico con el grosor de la íntima media carotídeo en pacientes con síndrome metabólico.

Hipótesis

Si pacientes con síndrome metabólico presentan estrés oxidativo y disfunción endotelial, encontraremos en ellos concentraciones plasmáticas aumentadas de F2 isoprostanos y disminuidas de óxido nítrico.

Si pacientes con síndrome metabólico presentan aumento del grosor de íntima media carotídeo, encontraremos en ellos aumento del F2 isoprostanos y disminución de óxido nítrico.

Aspectos éticos

El proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo. Los pacientes recibieron información sobre el estudio y firmaron un consentimiento informado.

MÉTODOS

Tipo de estudio

Se trata de un trabajo transversal, descriptivo.

Población y muestra

La muestra estuvo constituida por 31 individuos de ambos sexos y edades comprendidas entre 18 y 60 años, con síndrome metabólico evaluados en la consulta de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo entre los meses de febrero y septiembre del año 2011. Para diagnóstico del síndrome metabólico se aplicaron los criterios según Grupo Latinoamericano de Estudio del Síndrome Metabólico (GLESMO) (16). Los criterios de inclusión: pacientes con síndrome metabólico entre 18 y 60 años no tratados. Los criterios de exclusión: Pacientes que reciben terapia farmacológica que incluya: hipolipemiantes, sensibilizadores de insulina, antihipertensivos, nitratos, y pacientes con patologías como: cardiopatía crónica, diabetes mellitus, cáncer, obesidad mórbida, infarto del miocardio, enfermedad vascular cerebral, hipertensión pulmonar, asma bronquial, enfermedad renal crónica, hipotiroidismo, fumadores y embarazadas.

Procedimientos

Se realizó historia clínica y examen físico, medición de circunferencia abdominal, determinación de índice de masa corporal y toma de presión arterial. Así como determinaciones en sangre de glicemia, insulina, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, F2 isoprostanos (8-epi-FG2 α), y metabolitos de óxido nítrico.

Para la estimación de la sensibilidad insulínica, por el Homeostasis Model Assessment (HOMA) se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{HOMA-R} = (\text{Insulina basal (mU/ml)} \times \text{glucosa basal (mg/dl)}) / 405.$$

El IMC (índice de masa corporal) se calculó dividiendo el peso (kilogramos) entre la talla al cuadrado (metros).

La medición de la presión arterial se realizó con esfigmomanómetro de mercurio, con el paciente sentado, previo a reposo físico mayor a 5 minutos, y con lapso mayor a 30 minutos de no haber ingerido líquidos o alimentos. Con el brazo no dominante apoyado sobre superficie dura, se realizó la toma de tensión a nivel de la arteria braquial.

La determinación de la circunferencia de la cintura abdominal se realizó midiendo el punto medio entre el margen costal inferior y la cresta iliaca anterior, con el paciente en espiración.

Se determinaron niveles séricos de glicemia, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos, creatinina, empleando kits por método enzimático colorimétrico de Roche Diagnostico CA. Las muestras se tomaron en 2 tubos de vacutainer con EDTA y sin EDTA y fueron centrifugados a 2000 RPM por 20 minutos y separados en suero y plasma.

Para la determinación de insulina plasmática se utilizó quimioluminiscencia.

Para la determinación de óxido nítrico: se tomaron muestras de sangre periférica ante cubital 10 ml luego de 14 horas de ayuno y posterior a una dieta libre de nitritos (de 72 horas), entre los alimentos y productos que no debían consumir los pacientes se encontraban verduras, salsa de tomate, tubérculos, quesos, enlatados, embutidos, chorizos, salchichas, jamones, papas fritas, agua mineral, cerveza, vino, condimentos a base de hierbas, conservantes y preservativos presentes en todos los productos industrializados, así como tabaco y medicamentos a base de nitroglicerina. Se determinaron metabolitos de óxido nítrico por colorimetría con kit de Cayman Chemical Company (1180 E. Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108 USA, numero de catálogo: 760871). La prueba está diseñada para medir la acumulación total de nitrito y nitrato presentes en las muestras estudiadas, como productos de la reacción del óxido nítrico con el oxígeno molecular en presencia de óxido nítrico sintetasa. Los valores se reportaron en μM .

F2 isoprostanos (8-epi-FG2 α), se determinaron por método de Elisa empleando los kits Comercial de Cayman en un Lector de Microplacas Elisa Biotek Instruments, INC. Los valores se reportaron en pg/ml

Para la medición del grosor de íntima media carotídeo se realizó ecografía carotídea en modo B, utilizando eco doppler marca SIEMENS modelo ACUSON CYPRESS codificado a color con traductores y multifrecuencias de 7 a 11 MHZ. Con el paciente en reposo, en posición decúbito dorsal, con lateralización del cuello, se realizó la medición en la pared posterior de ambas arterias carótidas comunes, a 1 cm de la bifurcación de la arteria carotídea común, dicho estudio fue realizado por cirujano cardiovascular de la institución.

Recursos humanos

- Dra. Tanit Huerfano: Adjunto Departamento Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del Hospital Militar “Carlos Arvelo” (Tutor clínico)
- Dra. Biólogo Mary Lares: Laboratorio de Investigaciones Endocrinológicas y Metabólicas del Hospital Militar Dr. “Carlos Arvelo”. (Tutor científico)
- Dra. Gestne Aure. Endocrinólogo Centro Médico Docente La Trinidad. (Asesor médico)
- Lic. Leopoldo Sánchez. Profesor titular de la escuela de medicina “José María Vargas” de la Universidad Central de Venezuela. (Asesor estadístico)
- Especialista en realización de eco doppler carotideo Dr. Alcides Rodríguez, adjunto del Servicio de Cirugía Cardiovascular Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo.
- Personal de laboratorio central y de endocrinología del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo.
- Pacientes de la consulta externa del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo.

Recursos materiales

- Historia Clínica.
- Esfigmomanómetro de mercurio.
- Cinta métrica.
- Reactivos para cuantificar isoprostanos, óxido nítrico colesterol total y todas sus fracciones, triglicéridos, glicemia, insulina.
- Equipos para determinaciones de laboratorio.
- Equipos para toma de muestras: guantes, tubos de ensayo de plástico, inyectadoras de 5cc, plástica de 22G por 1” marca Gaesca®.
- Equipo de ecografía para realizar determinación de intima media carotídeo.
- Equipos de oficina: computadora, papelería, impresora.
- Material bibliográfico.

Recursos económicos

- Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo.

- CDCH de la Universidad Central de Venezuela.

Tratamiento estadístico

El análisis estadístico consistió en calcular pruebas descriptivas (media, desviación estándar, frecuencias y porcentajes) de las variables clínicas, bioquímicas e imagenológicas. Para comprobar si las variables siguieron o no una distribución normal se aplicó la prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnoff para medir normalidad. En el caso de las variables que tenían una distribución normal se aplicó la prueba "t" de Student para muestras pareadas y en el caso de las variables que no siguieron una distribución normal se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Dicho análisis se realizó utilizando el programa informático SPSS 2011.

RESULTADOS

En la tabla 1 se describen las características clínicas, bioquímicas e imagenológicas de la población estudiada, con medias y desviación estándar.

Tabla 1. Características de la muestra: pacientes con Síndrome Metabólico. Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo 2011.

CARACTERISTICAS	MEDIA
N	31
Femenino	64,52%
Masculino	35,48%
Edad (años)	47,5 ± 8,97
Tensión arterial sistólica (mmHg)	125,35 ± 17,10
Tensión arterial diastólica (mmHg)	80,97 ± 10,03
Circunferencia abdominal (cm)	106,19 ± 10,52
Índice de masa corporal (kg/m ²)	32,9 ± 5,83
Glicemia (mg/dl)	111,5 ± 14,36
Insulina μ U/mL	19 ± 10,78
HOMA IR	4,94 ± 4,12
Triglicéridos (mg/dl)	195,03 ± 116,38
Colesterol total (mg/dl)	223,3 ± 44,82
Colesterol HDL (mg/dl)	46,61 ± 16,76
Colesterol LDL (mg/dl)	137,46 ± 38,33
Oxido Nítrico (μ M)	13,57 ± 4,12
8-epi-FG2 α (pg/ml)	23,78 ± 18,67
Grosor intima media carotideo (mm)	0,91 ± 0,32

Los resultados están expresados como la media \pm desviación estándar.

Las concentraciones en plasma de óxido nítrico (tabla 2) se encontraron entre 5,98-19,50 μM ($13,57 \pm 4,12$). Los valores de 8-epi-FG2 α (tabla 3) se encontraron entre 1,08 – 62,71 pg/ml ($23,78 \pm 18,67$). Los valores de grosor íntima media carotídea (tabla 4) se encontraron entre 0,16 – 1,7 mm, ($0,91 \pm 0,32$).

De los 31 pacientes evaluados 16 (51%) presentaron grosor de íntima media carotídea mayor o igual a 0,9 mm (patológico), y 15 (49%) grosor de íntima media carotídea menor a 0,9 mm (normal). Cuando se dividió la población estudiada en 2 grupos según el GIMc (tabla 5), de las variables clínicas y bioquímicas se encontró que los niveles de ON demostraron diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p = 0,035$).

Se observó una correlación positiva entre óxido nítrico y grosor de íntima media carotídea ($r = 0,8882$) (grafico 1), así como también se observó una correlación positiva entre los valores de 8-epi-FG2 α y de grosor íntima media carotídea ($r = 0,8362$) (grafico2).

DISCUSIÓN

Aunque la disfunción endotelial ha sido un importante tópico evaluado en pacientes con síndrome metabólico, los resultados de estudios de óxido nítrico (ON) en estos pacientes son contradictorios. El presente estudio mostró una correlación positiva entre los valores de óxido nítrico y el grosor de intima media carotídeo. Nuestros pacientes presentaron niveles de ON en plasma elevados si lo comparamos con otros estudios como el de Simao y cols. (24) cuyos pacientes con síndrome metabólico presentaron bajos niveles de ON. Sin embargo Zahedi y cols. demostraron que las concentraciones séricas de óxido nítrico fueron más elevadas en pacientes con síndrome metabólico (SM) o con diabetes mellitus tipo 2 (DM 2) en comparación con controles, concluyendo que altas concentraciones de ON en pacientes con SM y DM 2 apoya la hipótesis existente de que la sobreproducción de ON afecta las acciones metabólicas de la insulina (25). La producción de peroxinitrito que es un radical libre producto del óxido nítrico y el superóxido, es capaz de alterar la función de enzimas catalíticas mitocondriales como se ha demostrado en tejidos de animales diabéticos (26). También se ha demostrado que interactúa con lípidos, ADN, y proteínas, alterando su función, bien sea a nivel de la señalización celular, o generando toxicidad celular, necrosis y apoptosis. In vivo, la generación de peroxinitrito representa un mecanismo patogénico crucial en condiciones como infarto al miocardio, insuficiencia cardíaca, diabetes, entre otros (27). Con esto podría plantearse que el exceso de ON genera un efecto deletéreo en diferentes moléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos favoreciendo el estrés oxidativo, este último factor implícito en el proceso de aterogénesis.

En cuanto a correlación entre 8-epi-FG2 α y grosor de intima media carotídeo, se encontró que fue positiva, pudiendo plantearse que el estrés oxidativo sería un factor que se relaciona positivamente con la aterosclerosis subclínica en pacientes con síndrome metabólico. Los F2 isoprostanos (tanto en plasma como en orina) en pacientes con síndrome metabólico se han encontrado en la mayoría de los estudios aumentados (3,8). Ello ha permitido considerarlo como un marcador confiable para evaluar disfunción endotelial.

Las actuales guías europeas consideran un valor de grosor intima media carotídeo mayor a 0,9 mm como lesión de órgano diana, y por ende la identificación de un paciente en alto riesgo (16).

Wendys y cols. encontraron un grosor de intima media carotideo (GIMc) aumentado en pacientes jóvenes con síndrome metabólico en comparación con controles, planteando un aumento en la presencia de aterosclerosis subclínica y por ende un incremento futuro del riesgo de eventos cardiovasculares (28). En nuestro estudio se observó que un importante porcentaje de pacientes con síndrome metabólico (51%) presento evidencias de aterosclerosis carotidea, dado por un grosor de intima media carotideo mayor o igual a 0,9 mm. Este grupo de pacientes entonces tendría mayor riesgo de presentar un evento cardiovascular. En el presente estudio cuando se dividieron los pacientes en función del grosor de intima media carotideo en 2 grupos: patológico (mayor o igual a 0,9 mm) y normal (menor a 0,9 mm), y se compararon se observó que solo existió diferencia estadísticamente significativa en los valores de óxido nítrico.

Los resultados del presente estudio sugieren que los pacientes con mayor GIMc presentan mayor estrés oxidativo y valores significativamente mayores de óxido nítrico, un hallazgo contrario a lo esperado. Esta mayor concentración de óxido nítrico podría asociarse a mayor estrés oxidativo, a través de la generación del radical libre peroxinitrito. Dichos resultados, también llevan a plantear que en estos pacientes el estrés oxidativo podría ser un evento más temprano que la caída en la biodisponibilidad del óxido nítrico.

Se recomienda realizar estudios futuros en los que se evalúen los niveles de 8-epi-FG2 α , óxido nítrico y aterosclerosis subclínica en pacientes con síndrome metabólico y grupos control. También recomendamos realizar estudios poblacionales a mayor escala que evalúen la incidencia y prevalencia de aterosclerosis subclínica en pacientes con síndrome metabólico, ya que este es un importante factor de riesgo cardiovascular.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Tanit Huerfano y Dra. Mary Lares por su asesoramiento y apoyo continuo, por facilitarnos la adquisición de reactivos para las pruebas especiales.

Dr. Alcides Rodríguez, por apoyarnos en la realización de los eco doppler carotideos.

Dra. Gestne Aure por la orientación prestada en cuanto a selección del tema, hipótesis y conclusiones tan valiosas.

Lic. Jorge Castro por su aporte en el análisis estadístico.

Personal del laboratorio de endocrinología y laboratorio central del Hospital Militar Dr Carlos Arvelo por apoyarnos en la toma y procesamiento de muestras.

Proyecto PG: N°09.7762.2009/1 del Consejo de Desarrollo Científico y humanístico CDCH-UCV, por la subvención de parte de esta investigación.

REFERENCIAS

1. Batsis JA, Nieto-Martinez RE, Lopez-Jimenez F. Metabolic síndrome: from global epidemiology to individualized medicine. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82(5):509-24
2. The IDF consensus worldwide definition of the METABOLIC SYNDROME. International Diabetes Federation, 2006
3. Meigs J, Larson M, Fox C, Keane J, Vasan M, Benjamin E. Association of oxidative stress, insulin resistance, and diabetes risk phenotypes the framingham offspring study. *Diabetes Care*, Volume 30, number 10, october 2007
4. Gopaul NK, Anggard EE, Mallet AI, Betteridge, DJ, Wolff SP, Nourooz-Zadeh J: Plasma 8-epi-PGF2 alpha levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett* 368: 225–229, 1995
5. Vijayalingam S, Parthiban A, Shanmugasundaram KR, Mohan V: Abnormal antioxidant status in impaired glucose tolerance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet Med* 13:715–719, 1996
6. Williams IL, Wheatcroft SB, Shah AM, Kearney MT. Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium: mechanisms of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 754-764.
7. Ebrahim K, Naderali P. Obesity and cardiovascular dysfunction: A role for resveratrol? *Obesity Research & Clinical Practice* 2009; 3: 45—52.
8. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, Maruyama, N, Kitagawa N, Tanaka T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y: Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab* 88:4673–4676, 2003
9. Siervo M, Bluck LJ. In vivo nitric oxide synthesis, insulin sensitivity, and asymmetric dimethylarginine in obese subjects without and with metabolic syndrome. *Metabolism.* 2011 Dec 5. ON LINE
10. O’Leary DH, Polar JF, Kronmal RA. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Engl J Med* 1999; 340:14-22.
11. Contreras F., Lares M Magaldi L., de La Parte M y Velasco M. Determinación de la sensibilidad insulínica por el Modelo Matemático de Homeostasis Modelo Assessmetnt (HOMA) en pacientes diabéticos tipo 2 e hipertensos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.* (2008) 26 (2)15-16.
12. International Lipid Information Bureau Venezuela. I I Consenso Nacional para el manejo del paciente con dislipidemia. Venezuela 2005.

13. Reaven GM, Banting lectura 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595-607.
14. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*. 2000;102:42–47.
15. Klein BE, Klein R, Lee KE. Components of the metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease and diabetes in Beaver Dam. *Diabetes Care*. 2002;25:1790 – 1794.
16. Brajkovich I, Caminos R, Aure G, Nieto R. *Guías Clínicas Venezolanas de Síndrome Metabólico*, 2010.
17. Montuschi P, Barnes P, and Roberts J. Osoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *THE FASEB Journal*. (2004) 18: 1791-80.
18. Hennig B, Meerarani P, Ramadass P, Watkins BA, Toborek M: Fatty acid-mediated activation of vascular endothelial cells. *Metabolism* 49:1006–1013, 2000
19. Stehouver CD, Gall MA, Tiwsk JW, Knudsen E, EEmeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, an chronic low grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated and independently associated with risk of death. *Diabetes* 2002; 101: 948-54.
20. Amy S, Lawrence M, Thomas R, Kimball Z, Philip R. Khoury R, et al. Influence of Duration of Diabetes, Glycemic Control, and Traditional Cardiovascular Risk Factors on Early Atherosclerotic Vascular Changes in Adolescents and Young Adults with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 3740–3745.
21. Ranganath M, Micaela I, Michael J, Quon MD. An Integrated View of Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2008; 37:685–711.
22. Bernard S, Serusclat A, Targe F, Charriere S, Roth O, Beaune J, et al. Incremental predictive value of carotid ultrasonography in the assessment of coronary risk in a cohort of asymptomatic type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2005;28:1158–62.
23. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2007;25:1105–87
24. A.N.C. Simão et al. Immunological and biochemical parameters of patients with metabolic syndrome and the participation of oxidative and nitroactive stress. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2011) 44: 707-712.

25. Zahedi Asl S, Ghasemi A, Azizi F. Serum nitric oxide metabolites in subjects with metabolic syndrome. *Clin Biochem* 2008; 41: 1342-1347.
26. Illarion V, Turko, Sisi Marcondes and Ferid Murad. Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid CoA-transferase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281:H2289-H2294, 2001.
27. Pal Pacher, Joseph S. Beckman and Lucas Liaudet. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87 (1): 315-424.
28. Wendy S et al. Increased Subclinical Atherosclerosis in Young Adults With Metabolic Syndrome: The Bogalusa Heart Study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005;46;457-463

Anexo 2

FORMULARIO PARA LA RECOLECCION DE DATOS

Nombres y apellidos: _____

Dirección: _____

Edad: _____ años Sexo: _____

Telf.: _____ Celular: _____

ANTECEDENTES PERSONALES:

ANTECEDENTES FAMILIARES:

HÁBITOS PSICOLÓGICOS:

Tabáquicos: _____

Cafeicos: _____

Alcohólicos: _____

EXAMEN FÍSICO:

TA: _____ mmHg Fc: _____ x' Fr: _____ x'

Peso: _____ Kg

Talla: _____ cms

IMC: _____ Kg/m²

CA: _____ cms

Cadera: _____ cms

Índice C/C: _____

General: _____

PARACLÍNICOS:

Glicemia: _____

Insulina Basal: _____

HOMAIR: _____

(Formula: $\text{insulina basal } \mu\text{g/ml} \times \text{glucosa basal mg/dl} / 405$).

Urea: _____ Creatinina: _____

Colesterol total: _____ Triglicéridos: _____

HDLc: _____ LDLc: _____

Grosor de intima media carotídeo: _____ mm.

Metabolitos óxido nítrico: _____

Isoprostanos: _____

ANEXO 3

Tabla. 2 Valores de óxido nítrico en pacientes con síndrome metabólico. Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo 2011.

Oxido Nítrico	co
μM .	
	5,98
	5,98
	5,98
	8,40
	9,12
	9,90
	9,90
	10,90
	10,90
	12,02
	12,02
	12,28
	12,52
	12,52
	12,87
	12,87
	13,54
	14,44
	14,46
	16,10
	16,32
	16,40
	16,40
	16,86
	18,24
	18,44
	18,44
	18,96
	19,24
	19,24
	19,50
n	31
Prom	13,6
DE	4,1244
Var	17,0106
CVP	30,39
V_{mayor}	19,50
V_{menor}	5,98
$R = V_{\text{mayor}} - V_{\text{menor}}$	13,52

ANEXO 4

Tabla. 3 Valores de F2 isoprostanos (8-epi-FG2 α) en pacientes con síndrome metabólico.
Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo 2011.

	8-epi-FG2 α pg/ml
	1,08
	2,20
	3,73
	4,07
	4,07
	4,24
	5,93
	8,14
	8,98
	8,99
	9,33
	11,87
	13,06
	13,23
	14,92
	15,26
	17,13
	23,78
	24,08
	34,29
	37,28
	37,74
	42,81
	42,85
	43,06
	47,45
	47,45
	48,08
	49,54
	49,74
	62,71
n	31
Prom	23,8
DE	18,6764
Var	348,8082
CVP	78,55
V _{mayor}	62,71
V _{menor}	1,08
R = V _{mayor} - V _{menor}	61,63

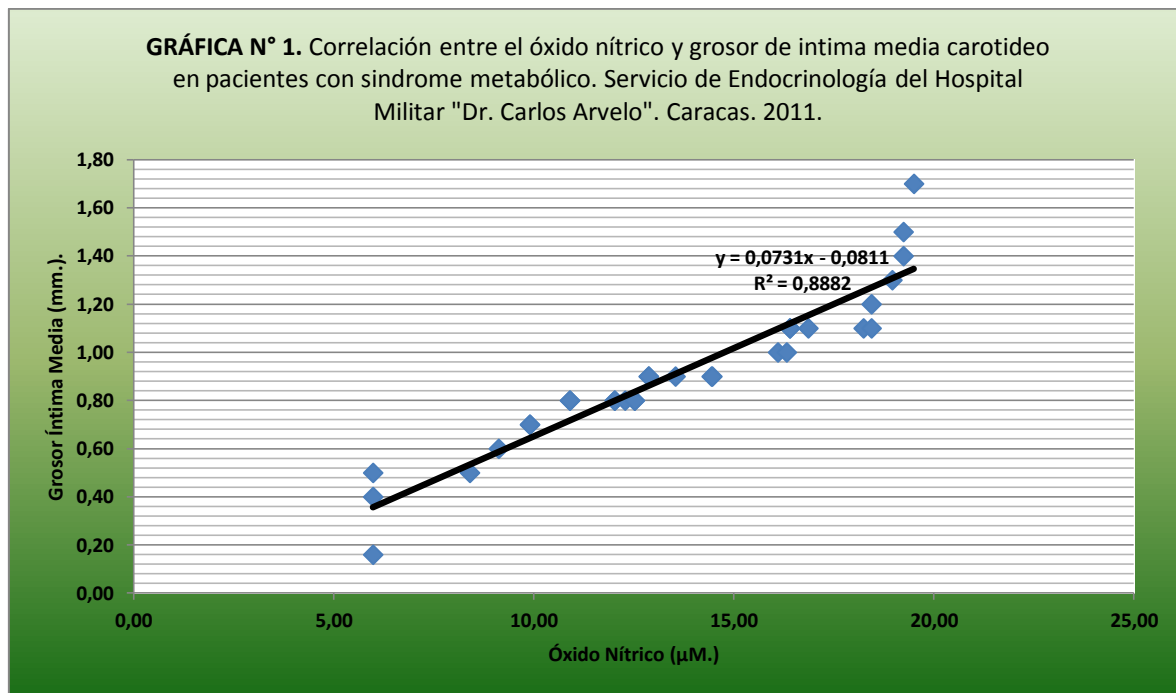
ANEXO 5

Tabla 4 . Valores de grosor de intima media carotideo en pacientes con sindrome metabólico.
Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo 2011.

	Grosor intima media carotideo mm.
	0,16
	0,40
	0,50
	0,50
	0,60
	0,70
	0,70
	0,80
	0,80
	0,80
	0,80
	0,80
	0,80
	0,90
	0,90
	0,90
	0,90
	1,00
	1,00
	1,10
	1,10
	1,10
	1,10
	1,10
	1,10
	1,20
	1,30
	1,40
	1,50
	1,70
n	31
Prom	0,9
DE	0,3201
Var	0,1024
CVP	35,11
V _{mayor}	1,70
V _{menor}	0,16
$R = V_{mayor} - V_{menor}$	1,54

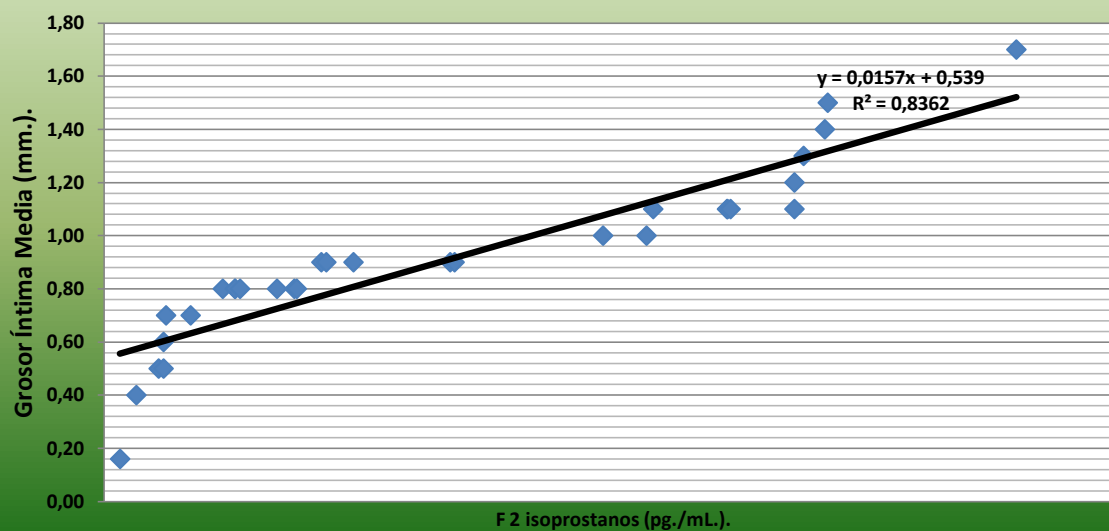
ANEXO 6

GRÁFICA N° 1. Correlación entre el óxido nítrico y grosor de intima media carotideo en pacientes con síndrome metabólico. Servicio de Endocrinología del Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo". Caracas. 2011.



ANEXO 7

GRÁFICA N° 2. Correlación entre el F2 Isoprostanos (8-epi-FG2 α) y grosor de intima media carotideo en pacientes con síndrome metabólico. Servicio de Endocrinología Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo". Caracas. 2011.



ANEXO 8

Tabla 5. Características de los pacientes con síndrome metabólico según grosor de intima media carotideo. Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo 2011.

CARACTERISTICAS	Grosor de intima media carotideo menor a 0,9 mm 15	Grosor de intima media carotideo mayor a 0,9 mm 16	Diferencia (t)
N	15	16	
Porcentaje	49%	51%	
Femenino	86,66% (n=13)	56,25% (n=9)	
Masculino	13,33% (n=2)	43,75% (n=7)	
Edad (años)	46,93 ± 9,26	48 ± 8,96	S (326)
Tensión arterial sistólica (mmHg)	128 ± 18	122,87 ± 16,29	S (-829)
Tensión arterial diastólica (mmHg)	82,33 ± 8,20	79,68 ± 11,61	S (-728)
Circunferencia abdominal (cm)	105,2 ± 10,61	107,12 ± 10,70	S (502)
Índice de masa corporal (kg/m ²)	33,54 ± 6,33	32,25 ± 5,40	S (-615)
Glicemia (mg/dl)	109,8 ± 12,57	113,12 ± 16,10	S (638)
Insulina µU/ml	16,8 ± 4,70	18,68 ± 14,73	S (472)
HOMA IR	4,30 ± 1,41	5,52 ± 5,60	S (816)
Triglicéridos (mg/dl)	176,66 ± 82,18	212,25 ± 141,89	S (847)
Colesterol total (mg/dl)	229,26 ± 45,08	217,68 ± 45,30	S (-713)
Colesterol HDL (mg/dl)	47,06 ± 14,37	46,18 ± 19,20	S (-144)
Colesterol LDL (mg/dl)	147,92 ± 28,47	128,31 ± 44,11	S (-1409)
Óxido Nítrico (µM)	12,99 ± 4,88	14,11 ± 3,33	S (748) **
8-epi-FG2α (pg/ml)	25,71 ± 19,09	21,95 ± 18,70	S (553)
Grosor intima media carotideo (mm)	0,66 ± 0,19	1,11 ± 0,18	S (6402)

Los resultados están expresados como la media ± desviación estándar.

** p < 0,05