

La Trimetazidina Disminuye la Glicemia Basal en Ratas con Hiperglicemia de Ayuno.

Clímaco Cano, Valmore Bermúdez, Aida Souki, Anilsa Amell, Helen Restrepo, Elliuz Leal, Santiago Espinoza, Hamid Seyfi, Melissa Arria, Joselyn Rojas, Mayerlim Medina, Maryluz Núñez, Fernando Bermúdez A.

1. Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez", Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

RESUMEN

La Trimetazidina (TMZ) es un fármaco con propiedades cardioprotectoras utilizado en la cardiopatía isquémica aguda y crónica. Su efecto deriva del bloqueo del transporte de ácidos grasos de cadena larga al interior de la mitocondria de la célula miocárdica por inhibición de la carnitina-palmitoil-transferasa-1. Existe evidencia clínica que apoya la posibilidad de que la TMZ sea capaz de mejorar la triperglicemia de ayuno en los pacientes diabéticos. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la TMZ sobre la glicemia en ayuno de ratas Sprague-Dawley con pesos comprendidos entre 300-400 g y cuyas glicemias basales fueron mayores o iguales a 126 mg/dl, recibiendo agua y alimento "ad libitum" y tratamiento con TMZ a razón de 1 mg/Kg/12 horas durante 30 días. Previo ayuno de 12 horas se obtuvo una muestra de sangre a los 30 días de estar recibiendo el tratamiento (último día de tratamiento) y otra, 15 días después de la conclusión del mismo, con la finalidad de determinar la concentración de glucosa plasmática. La glicemia en ayuno luego de 30 días de concentración de glucosa plasmática. La glicemia en ayuno luego de 30 días de administración de TMZ disminuyó significativamente de $141,27 \pm 3,31$ mg/dl hasta $120,90 \pm 5,84$ mg/dl ($p < 0,01$). Quince días después de finalizado el tratamiento se observó un incremento de la glicemia basal desde $120,90 \pm 5,84$ hasta $137,09 \pm 7,08$ mg/dl ($p < 0,05$). La TMZ mejoraría la utilización de la glucosa a través de la activación de la vía glucolítica en la célula muscular y hepática mejorando así el estado hiperglicémico en ratas diabéticas tipo 2.

Palabras Claves: Glicemia Trimetazidina, Hipoglicemiantes,

ABSTRACT

Trimetazidine (TMZ) is a drug with cardioprotective properties used in coronary artery disease. Its effect has been attributed to inhibition of the long chain fatty acids intra-mitochondrial transport via Carnitin-Palmitoil-transferase- 1. Clinical evidence supports the possibility that TMZ is able to improve the fasting hyperglycemia in diabetic patients. For this reason, the objective of the present study was to determine the effect of TMZ on plasma glucose of Sprague-Dawley rats under fasting hyperglycaemia. All the animals received water and food "ad libitum" and two daily TMZ doses (1 mg/Kg) during 30 days. In order to complete the study, were collected (in fasting period) two blood samples, the last day of treatment (30th day) and 15 days post-treatment and processed with the purpose of evaluate the concentration of plasma glucose. The fasting glycaemia after 30 days of TMZ administration, diminished significantly from $141,27 \pm 3,31$ mg/dl to $120,90 \pm 5,84$ mg/dl ($p < 0,01$). Fifteen days after finishing treatment, the fasting plasma glucose levels increased again (from $120,90 \pm 5,84$ to $137,09 \pm 7,08$ mg/dl) ($p < 0,05$). These data suggest that TMZ improves glucose utilization by activation of the glucolytic pathway in muscular and hepatic cells to the diminish hyperglycaemic state in diabetic rats.

Word Keys: Glycaemia, Trimetazidine, Hypoglycemic drugs

INTRODUCCION

La Trimetazidina (1-[2-3-4-Trimetoxibenzil] Piperazina) es un fármaco con propiedades cardioprotectoras utilizado en la cardiopatía isquémica aguda y crónica^(1,2,3). Se ha demostrado que su efecto anti-isquémico se deriva principalmente del bloqueo del transporte de los ácidos grasos de cadena larga al interior de la mitocondria de la célula miocárdica a través de la inhibición de la Carnitin-palmitoil-transferasa-1^(4,5). Es bien conocido el hecho que la oxidación de los ácidos grasos consume mucho más oxígeno que la oxidación de la glucosa⁽⁶⁾, lo cual, en momentos de isquemia como sucede durante la oclusión de una arteria coronaria, es perjudicial. Este efecto sobre el metabolismo de los ácidos grasos a nivel de la fibra cardíaca podría ser extrapolado a otras células como el músculo estriado esquelético e inclusive al hígado, ya que está bien establecido que estos tejidos juegan un papel clave en la insulino-resistencia desarrollada por los pacientes diabéticos tipo 2. El bloqueo de la beta oxidación de los ácidos grasos a nivel muscular en individuos diabéticos tipo 2 ha sido objeto de investigación intensa en los últimos años, ya que, tal como lo afirman investigadores como Randle, un incremento en la biodisponibilidad y oxidación de ácidos grasos de cadena larga es capaz de provocar disturbios metabólicos que culminan finalmente en

la inhibición del metabolismo oxidativo y no oxidativo de la glucosa, ambos capaces de conducir a hiperglicemia^(7,8).

Evidencia clínica apoya la posibilidad que la Trimetazidina sea capaz de mejorar el manejo de las glicemias en ayuno en los pacientes diabéticos, ya que no es infrecuente ver como individuos diabéticos con cardiopatía isquémica crónica o aguda mejoran su respuesta a hipoglicemiantes orales como el Metformin reflejada a través de una disminución de la Hb A1c (Bermúdez Arias, Datos no publicados). El propósito del presente trabajo fue investigar el efecto de la Trimetazidina (TMZ) sobre la glicemia en ayuno de ratas Sprague-Dawley con hiperglicemia basal.

MATERIALES Y METODOS

Para el presente estudio se utilizaron ratas machos Sprague-Dawley con pesos comprendidos entre 350-400 g, las cuales recibieron agua y alimento para rata (Ratarina, Purina Venezuela) "Ad libitum". Previo ayuno de 12 horas se determinaron los niveles de glucosa plasmática (Método de glucosa oxidasa, Sigma, USA) a través del análisis de una muestra de sangre obtenida mediante punción intracardíaca luego de anestesia con éter dietílico. Los animales que clasificaron para la siguiente etapa, 15 en total, fueron aquellos que presentaron glicemias basales mayores o iguales a 126 mg/dl. Una semana después se repitió el proceso de determinación de glucosa plasmática a fin de verificar el diagnóstico, encontrándose que los 15 animales seleccionados permanecían con hiperglicemia en ayuno.

La siguiente etapa del estudio comprendió la administración por sondeo orogástrico de Trimetazidina a razón de 1 mg/Kg/12 horas durante 30 días mediante una solución preparada a partir de 20 mg de TMZ diluidos en 10 ml de agua destilada. Luego de 30 días de tratamiento se procedió nuevamente a tomar una muestra de sangre con la finalidad de determinar la influencia de la administración de la droga sobre los niveles de glucosa sanguínea en ayuno. Las glicemias antes del tratamiento se tomaron como base para compararlas con los materiales luego de concluido el esquema terapéutico. A los 15 días después de la culminación del tratamiento se obtuvo una tercera muestra de sangre en ayuno a fin de determinar el efecto de la suspensión del tratamiento sobre la glicemia basal.

Los valores de glicemia en ayuno obtenidos se ordenaron en 3 grupos: a) pre-tratamiento, b) a los 30 días de tratamiento y c) Quince días post-tratamiento. Los resultados se presentaron como promedios \pm error estándar y la significación estadística de las diferencias entre las glicemias de los 3 grupos

mencionados se determinó con la prueba T de Student, considerándose como significativas aquellas diferencias que arrojaron un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Como puede observarse en el [gráfico 1](#), los niveles basales de glucosa antes del tratamiento están por encima de los considerados como normales (Primera determinación: $140,18 \pm 2,93$ mg/dl). Es importante señalar que los niveles glicémicos en ayuno y post-prandiales manejados por la rata son en esencia idénticos a los del ser humano, por lo que, desde el punto de vista clasificatorio, estos animales podrían considerarse como diabéticos tipo 2⁽⁹⁾. Nótese incluso como la glicemia en ayuno se mantiene elevada en la siguiente cuantificación practicada 15 días después ($141,27 \pm 3,31$ mg/dl) ([Gráfico 1](#)). No obstante, es oportuno señalar que es necesario hacer investigaciones más profundas en orden de estudiar mejor la evolución natural de la hiperglicemia en ayuno en las ratas maduras Sprague-Dawley, en especial, si estos animales presentan sobrepeso.

Los niveles plasmáticos de glucosa luego de 30 días de administración de Trimetazidina por vía oral disminuyeron significativamente de $141,27 \pm 3,31$ mg/dl hasta $120,90 \pm 5,84$ mg/dl ($p < 0,006$). Quince días después de finalizado el tratamiento se observó incremento de la glicemia basal desde $120,90 \pm 5,84$ mg/dl hasta $137,09 \pm 7,08$ mg/dl ($p = 0,05$) ([Gráfico 1](#)).

[Gráfico 1](#)

Comportamiento de la Glicemia en Ayuno de Ratas Tratadas con Trimetazidina por vía Oral Durante un Mes

DISCUSION

Los niveles de glucosa en sangre son regulados fundamentalmente por la capacidad del músculo esquelético para captar la glucosa proveniente de los alimentos, lo que determina la glicemia post-prandrial, y la Gluconeogénesis hepática que mantiene la glicemia en ayuno durante límites normales^(10,11). Ambos mecanismos pueden ser modificados por la disponibilidad de los ácidos grasos libres circulantes, por lo que, el tejido adiposo y el metabolismo del quilomicron juegan un papel crucial ya que de éstos depende la concentración de los ácidos grasos circulantes en sangre^(11,12). En la obesidad la sobreoferta de ácidos grasos al tejido muscular esquelético altera la

regulación del ciclo del glucógeno debido a la inhibición de la enzima glucógeno sintetasa. Los mecanismos involucrados en la inhibición de vías no oxidativas del metabolismo de la glucosa son muy variados. La competencia establecida entre los ácidos grasos de cadena larga y la glucosa como sustratos energéticos en tejido muscular conduce a un incremento en los cocientes ATP/ADP, Acetil CoA/CoA, NADH/NAD⁺ y de las concentraciones de citrato, hecho que es sentido en el interior celular como un momento de alto estado energético que conduce a la inhibición por modulación alostérica negativa del complejo multienzimático de la piruvato deshidrogenasa y de la enzima glucolítica Fosfofructocinasa-1. De esta manera, la acumulación neta de fructosa 6-fosfato y por consiguiente de glucosa 6-fosfato inhiben por retroalimentación a la Hexocinasa, bloqueándose la fosforilación de la glucosa y como consecuencia de esto, se acumula glucosa 1-fosfato proveniente de la glucogenólisis, la cual inhibe la enzima glucógeno fosforilasa, cuestión que conduce a dos cambios metabólicos importantes: 1. Inhibición de la glucogenólisis, lo que mantiene elevados los depósitos de glucógeno muscular y 2. Una disminución de la capacidad del músculo esquelético para almacenar glucosa en forma de glucógeno durante el período post-absortivo de los alimentos. Con el fin de evitar la Glucotoxicidad el músculo esquelético se hace resistente a la insulina, lo que conduce a un estado inicial de intolerancia a la glucosa caracterizada por hiperglicemia post-prandial e hiperinsulinemia seguida de fatiga del páncreas, alteración en los patrones secretorios de insulina y diabetes tipo 2^(13,14). Fármacos como el Metformin y el Benfluorex deben su efecto antihiperglicémico al control de la gluconeogénesis hepática por disminución de la concentración de los ácidos grasos circulantes^(15,16,17).

El balance global de todo lo antes descrito, a nivel del tejido muscular y compartimiento plasmático comprende entonces: **1.** Inhibición de la descarboxilación oxidativa del piruvato, **2.** Inhibición progresiva del metabolismo oxidativo de la glucosa **3.** Inhibición del metabolismo no oxidativo de la glucosa, **4.** Hiperglicemia en ayuno y post-Prandial y **5.** Hiperinsulinemia. Por otra parte, en el hepatocito se producen dos procesos importantes en los individuos diabéticos: en ayuno, el hígado es responsable de la hiperglicemia basal debido a un incremento en la gluconeogénesis, mantenida en parte, por la insulinoresistencia hepática que imposibilita la inhibición por parte de la insulina de las enzimas de la lipólisis y de las enzimas regulables de la gluconeogénesis, a saber: La glucosa 6-fosfatasa, la fructosa 2,6,-difosfatasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinas y piruvato carboxilasa. Debido al efecto de la TMZ sobre el metabolismo de los ácidos grasos, puede inferirse que ésta produce un mejoramiento en la utilización de glucosa a través de la activación de la vía glucolítica a expensas del bloqueo de la Carnitiri-palmitoil-transferasa-1, siendo esto corroborado por experiencias realizadas con drogas como el metil palmoxirato y etomoxir, los cuales, al igual que la TMZ son inhibidores del Carnitin-palmitoil-transferasa-1^(18,19,20). Debido a los efectos antes descritos, es probable que la

TMZ influya sobre la utilización de glucosa por parte de la célula muscular y hepática, mejorando por lo tanto el estado hiperglicémico en ratas diabéticas tipo 2.

BIBLIOGRAFIA

1. Labrid C.: Cellular disorders induced by ischaemia. The effect of trimetazidine. *Presse Med*, 1986; 15:1754-758,
2. Schutz DS: Therapeutic importance of trimetazidine in ischemic pathology of the Myocardium. *Presse Med*, 1986:1788-1790
3. Sentex E; Sergiel JP; Lucien A; Grynberg A Is the cytoprotective effect of trimetazidine associated with lipid metabolism? *Am J Cardiol*, 1998; 82:18-24
4. Morin D; Elimadi A; Sapena R; Crevat A; Carrupt PA; Testa B; Tillement JP: Evidence for the existence of [3H]-trimetazidine binding sites involved in the regulation of the mitochondrial permeability transition pore. *Br J Pharmacol*, 1998; 123:1385-1394.
5. Lavanchy N; Martin J; Rossi A: Trimetazidine preservation of the energy potential of the myocardium during ischemia and reperfusion. Phosphorus NMR spectroscopy study of the isolated heart. *Presse Med*, 1986; 15:1758-1761
6. Bonadona RC, Zych K, Boni C, Ferranini E, DeFronzo RA: Time dependence of the interaction between lipid and glucose in humans. *Am J Physiol* 1989; 257:49-56
7. Randle PJ, Kerbey AL, Espinal J: Mechanism decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: Role of lipids fuel and hormones. *Diabetes Metab Rev* 4: 1988; 4:623-628
8. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA: The glucose fatty acid cycle. Its role on insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* I: 1963; 1:785-789
9. The expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes mellitus. "Report of the expert committee on the diagnosis and

classification of Diabetes mellitus". *Diabetes Care* 1997; 21 (1): S5-S19.

10. Randle PJ: Carbohydrate metabolism and lipid storage and breakdown in diabetes. *Diabetologia* 1966; 2:237-247.

11. Bodem G, Jadell F, White J: Effect of fat on insulin stimulated carbohydrate metabolism in normal man. *J Clin Inv* 1991; 88: 960-966.

12. Ferranini E, Barret EJ, Bevilacqua A, DeFronzo RA: Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Inv* 1991; 88: 960-966.

13. Reaven JM: Insulin resistance in Non-insulin dependent diabetes mellitus Does it exist and can be measure? *Am J Med* 74,1983; 74 (supp): 3-17

14. Frazee E, Donner CC, Reaven GM: Ambient plasma free fatty acid concentrations in non-insulin dependent diabetes mellitus. Evidence for insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61:807-811

15. Bailey CJ, Turner RC: Drug therapy: Metformin. *N Engl J Med* 1996; 334:574-579

16. Johansen K: Efficacy of Metformin in the treatment of NIDDM: Metaanalysis. *Diabetes Care*,1999; 22(1):432-442

17. Lacou F and Duhault, J: Benfluorex: An antidiabetic agent which does not release insulin. *Diabetologia* 1989; 32:507.

18. Libersa C; Honor'e E; Adamantidis M; Rouet E; Dupuis B; Challice C: Effects of trimetazidine on a model of in vitro myocardial ischemia. *Presse Med*, 1986; 15:1765-1769,

19. McClellan KJ; Plosker GL: Trimetazidine. A review of its, use in stable angina pectoris and other coronary conditions. *Drugs*, 1999; 58:143-57.

20. Guarnieri C; Muscari C: Beneficial effects of trimetazidine on mitochondrial function and superoxide production in the cardiac muscle of monocrotalin-treated rats. *Biochem Pharmacol*, 1988; 37:4685-8.