

La Revista Latinoamericana de Hipertensión publica su tercer número del año 2010. Hay varios manuscritos originales de gran relevancia para la hipertensión arterial y el síndrome metabólico, el primero proviene del grupo del Dr. Freddy Contreras sobre dopamina y metoclopramida y los parámetros cardiometabólicos en pacientes diabéticos, el segundo sobre polimorfismo del gen de la enzima convertidora de angiotensina del laboratorio de la Dra. Antonietta Porco y el tercero sobre el uso de metformina en síndrome metabólico y pre-hipertensión.

Dr. Manuel Velasco

Dr. Rafael Hernández-Hernández

Editores en Jefe

Dra. María José Armas de Hernández

Editora Ejecutiva

**Editores en Jefe**

Manuel Velasco (Venezuela)  
Rafael Hernández Hernández (Venezuela)

**Editor Ejecutivo**

María José Armas (Venezuela)

**Editores Asociados**

Alcocer Luis (México)  
Brandao Ayrton (Brasil)  
Feldstein Carlos (Argentina)  
Israel Anita (Venezuela)  
Israili Zafar (Estados Unidos)  
Levenson Jaime (Francia)  
Parra José (México)  
Ram Venkata (Estados Unidos)

**Comité Editorial**

Arciniegas Enrique (Venezuela)  
Amodeo Celso (Brasil)  
Baglivo Hugo (Argentina)  
Bermúdez Valmore (Venezuela)  
Briceño Soledad (Venezuela)  
Contreras Freddy (Venezuela)  
Contreras Jesús (Venezuela)  
Crippa Giuseppe (Italia)  
Armas María Cristina (Venezuela)  
Juan De Sanctis (Venezuela)  
Escobar Edgardo (Chile)  
Gamboa Raúl (Perú)  
Kaplan Norman (Estados Unidos)  
Lares Mary (Venezuela)  
Lenfant Claude (Estados Unidos)  
López Jaramillo Patricio (Colombia)  
López Nora (Venezuela)  
López Rivera Jesús (Venezuela)  
Manfredi Roberto (Italia)  
Marahnao Mario (Brasil)  
Monsalve Pedro (Venezuela)  
Morr Igor (Venezuela)  
Ponte Carlos (Venezuela)  
Rodríguez de Roa Elsy (Venezuela)  
Sánchez Ramiro (Argentina)  
Soltero Iván (Venezuela)  
Tellez Ramón (Venezuela)  
Valdez Gloria (Chile)  
Vidt Donald (Estados Unidos)  
Zanchetti Alberto (Italia)

**Influencia de dopamina y metoclopramida en variables metabólicas y hemodinámicas de pacientes diabéticos tipo 2**

*Influence of dopamine and metoclopramide on hemodynamic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus*

Freddy Contreras, Mary Lares, Luis Magaldi;  
Jenny Salcedo y Manuel Velasco

**43****Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and acute myocardial infarction. A case - control study in Venezuela**

Carolina Pestana; Mary Lares; Sara Brito, Antonietta Porco.

**53****Efecto de la metformina sobre la función endotelial en pacientes con síndrome metabólico y pre-hipertensión**

*Effect of metformin on the endothelial function in patients with metabolic syndrome and prehypertension*

Emma A. Armanie Cabral, Beatriz A. Sosa-Canache,  
Nicola Virgilio, Amanda C. Duin Balza, Beatriz Pacheco,  
Rafael Hernández-Hernández

**58****COPYRIGHT**

Derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial de todo el material contenido en la revista sin el consentimiento por escrito de los editores.

Volumen 5, N° 3, 2010

Depósito Legal: pp200602DC2167

ISSN: 1856-4550

Sociedad Latinoamericana de Hipertensión

Dirección: Escuela de Medicina José María Vargas,

Cátedra de Farmacología, piso 3. Esq. Pirineos.

San José. Caracas-Venezuela. Telfs. 0212-5619871

**E-mail: latinoamericanadehipertension@gmail.com**

**www.lash-hipertension.org**

Comercialización y Producción:

Felipe Alberto Espino

Teléfono: 0212-881.1907/ 0416-811.6195 / 0412-363.4540

**E-mail: felipeespino7@gmail.com**

Diseño de portada y diagramación:

Mayra Gabriela Espino

Teléfono: 0412-922.25.68

**E-mail: mayraespino@gmail.com**

## Alcance y Política Editorial

La Revista Latinoamericana de Hipertensión es una publicación biomédica periódica, arbitrada, de aparición trimestral, destinada a promover la productividad científica de la comunidad nacional e internacional en toda el área del Sistema Cardiovascular; la divulgación de artículos científicos y tecnológicos originales y artículos de revisión por invitación del Comité Editorial.

Está basada en la existencia de un Comité de Redacción, consistente en Editores en Jefe, Editores asociados y Comité Editorial. Los manuscritos que publica pueden ser de autores nacionales o extranjeros, residentes o no en Venezuela, en castellano o en inglés (los resúmenes deben ser en inglés y castellano). Los manuscritos deben ser trabajos inéditos.

La Junta Directiva de la Revista no se hace responsable por los conceptos emitidos en los manuscritos. Los autores deben aceptar que sus manuscritos no se hayan sometidos o hayan publicados en otra revista. El manuscrito debe ir acompañado de una carta solicitud firmada por el autor principal y el resto de los autores responsables del mismo.

## Forma de Preparación de los Manuscritos

Para la publicación de trabajos científicos en la Revista Latinoamericana de Hipertensión, los mismos estarán de acuerdo con los requisitos originales para su publicación en Revistas Biomédicas, según el Comité Internacional de Editores de Revistas Biomédicas (Arch. Intern. Med. 2006;126(36):1-47), [www.icmje.com](http://www.icmje.com). Además, los editores asumen que los autores de los artículos conocen y han aplicado en sus estudios la ética de experimentación (Declaración de Helsinki). A tales efectos, los manuscritos deben seguir las instrucciones siguientes:

**1.** Mecanografiar original a doble espacio en idioma español, papel bond blanco, 216 x 279 mm (tamaño carta) con márgenes por lo menos de 25 mm, en una sola cara del papel. Usar doble espacio en todo el original. Su longitud no debe exceder las 10 páginas, excluyendo el espacio destinado a figuras y leyendas (4-5) y tablas (4-5).

**2.** Cada uno de los componentes del original deberán comenzar en página aparte, en la secuencia siguiente:

- Página del título.
- Resumen y palabras claves.
- Texto.
- Agradecimientos.
- Referencias.
- Tablas: cada una de las tablas en páginas apartes, completas, con título y llamadas al pie de la tabla.
- Para la leyenda de las ilustraciones: use una hoja de papel distinta para comenzar cada sección. Enumere las páginas correlativamente empezando por el título. El número de la página deberá colocarse en el ángulo superior izquierdo de la misma.

**3.** La página del título deberá contener:

- Título del artículo, conciso pero informativo.
  - Corto encabezamiento de página, no mayor de cuarenta caracteres (contando letras y espacios) como pie de página, en la página del título con su respectiva identificación.
  - Primer nombre de pila, segundo nombre de pila y apellido (con una llamada para identificar al pie de página el más alto grado académico que ostenta y lugar actual donde desempeña sus tareas el(los) autores.
  - El nombre del departamento (s) o instituciones a quienes se les atribuye el trabajo.
  - Nombre y dirección electrónica del autor a quien se le puede solicitar separatas o aclaratorias en relación con el manuscrito.
  - La fuente que ha permitido auspiciar con ayuda económica: equipos, medicamentos o todo el conjunto.
  - Debe colocarse la fecha en la cual fue consignado el manuscrito para la publicación.

**4.** La segunda página contiene un resumen en español y su versión en inglés, cada uno de los cuales tendrá un máximo de 150 palabras. En ambos textos se condensan: propósitos de la investigación, estudio, método empleado, resultados (datos específicos, significados estadísticos si fuese posible) y conclusiones. Favor hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio o de las observaciones. Inmediatamente después del resumen, proporcionar o identificar como tales: 3-10 palabras claves o frases cortas que ayuden a los indexadores en la construcción de índices cruzados de su artículo y que puedan publicarse con el resumen, utilice los términos del encabezamiento temático (Medical Subject Heading) del Index Medicus, cuando sea posible.

**5.** En cuanto al texto, generalmente debe dividirse en: introducción, materia-les y métodos, resultados y discusión.

**6.** Agradecimientos, sólo a las personas que han hecho contribuciones reales al estudio.

**7.** Las referencias bibliográficas serán individualizadas por números arábigos, ordenados según su aparición en el texto. La lista de referencias bibliográficas llevarán por título "Referencias Bibliográficas" y su ordenamiento será según su orden de aparición en el texto.

Las citas de los trabajos consultados seguirán los requisitos de uniformidad para manuscritos presentados a revistas Biomédicas, versión publicada en: Ann Intern Med. 2006; 126(36): 1-47, [www.icmje.com](http://www.icmje.com). No se aceptarán trabajos que no se ajusten a las normas.

**8.** Tablas: En hoja aparte cada tabla, mecanografiada a doble espacio; no presentar tablas fotográficas; enumere las tablas correlativamente y proporcione un título breve para cada una; dé a cada columna un encabezamiento corto o abreviado; coloque material explicativo en notas al pie de la tabla y no en el encabezamiento; explique en notas al pie de la tabla las abreviaturas no estandarizadas usadas en cada tabla; identifique claramente las medidas estadísticas de las variables tales como desviación estándar y error estándar de la medida; no use líneas horizontales ni verticales: citar cada tabla en orden correlativo dentro del texto; citar la fuente de información al pie de la tabla si ésta no es original.

**9.** Ilustraciones: Deben ser de buena calidad; entregarlas separadas; las fotos, en papel brillante con fondo blanco, generalmente 9 x 12 cm. Las fotografías de especímenes anatómicos, o las de lesiones o de personas, deberán tener suficiente nitidez como para identificar claramente todos los detalles importantes. En caso de tratarse de fotos en colores, los gastos de su impresión correrán a cargo del autor(s) del trabajo. Lo mismo sucederá con las figuras que superen el número de cuatro.

Todas las figuras deberán llevar un rótulo engomado en el reverso y en la parte superior de la ilustración indicando número de la figura, apellidos y nombres de los autores. No escribir en la parte posterior de la figura. Si usa fotografía de personas, trate de que ésta no sea identificable o acompañarla de autorización escrita de la misma. Las leyendas de las ilustraciones deben ser mecanografiadas a doble espacio en página aparte y usar el número que corresponde a cada ilustración. Cuando se usen símbolos y fechas, números o letras para identificar partes en las ilustraciones, identifíquelas y explíquelas claramente cada una en la leyenda. Si se trata de microfotografía, explique la escala e identifique el método de coloración.

**10.** Envíe un original y dos copias impresas en un sobre de papel grueso, incluyendo copias fotográficas y figuras entre cartones para evitar que se doblen, simultáneamente envíe una versión electrónica en CD o a través del e-mail: [latinoamericanadehipertension@gmail.com](mailto:latinoamericanadehipertension@gmail.com), indicando el programa de archivo. Las fotografías deben venir en sobre aparte. Los originales deben acompañarse de una carta de presentación del autor en la que se responsabiliza de la correspondencia en relación a los originales. En ella debe declarar que conoce los originales y han sido aprobados por todos los autores; el tipo de artículo presentado, información sobre la no publicación anterior en otra revista, congresos donde ha sido presentado y si se ha usado como trabajo de ascenso.

Acuerdo de asumir los costos de su impresión en caso de fotos a color, autorización para reproducir el material ya publicado o ilustraciones que identifiquen a personas.

**11.** Los artículos a publicarse, pueden ser: originales, revisiones, casos clínicos, y cartas al editor.

**12.** Cuando se refiere a originales, queda entendido que no se enviará artículo sobre un trabajo que haya sido publicado o que haya sido aceptado para su publicación en alguna parte.

**13.** Todos los trabajos serán consultados por lo menos por dos árbitros en la especialidad respectiva.

**14.** La Revista Latinoamericana de Hipertensión, no se hace solidaria con las opiniones personales expresadas por los autores en sus trabajos, ni se responsabiliza por el estado en el que está redactado cada texto.

**15.** Todos los aspectos no previstos por el presente reglamento serán resueltos por el Comité Editorial de la Revista.

**16.** La revista apoya las políticas para registro de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), reconociendo la importancia de esas iniciativas para el registro y divulgación internacional de Información sobre estudios clínicos, en acceso abierto. En consecuencia, solamente se aceptarán para publicación, a partir de 2007, los artículos de investigaciones clínicas que hayan recibido un número de identificación en uno de los Registros de Ensayo Clínicos validados por los criterios establecidos por OMS e ICMJE, cuyas direcciones están disponibles en el sitio del ICMJE. El número de Identificación se deberá registrar al final del resumen.

# Influencia de dopamina y metoclopramida en variables metabólicas y hemodinámicas de pacientes diabéticos tipo 2

## Influence of dopamine and metoclopramide on hemodynamic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus

Freddy Contreras<sup>1</sup>, Mary Lares<sup>2</sup>, Luis Magaldi<sup>3</sup>, Jenny Salcedo y Manuel Velasco<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Médico Internista, Profesor Fisiopatología, FM-UCV, Caracas, Venezuela. Centro Médico Docente Los Altos Carrizal-Miranda.

<sup>2</sup>Biólogo Dra. y Profesor Escuela de Nutrición y Dietética. Facultad de Medicina y Coordinador del área de investigación del Servicio de Endocrinología. Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo, Caracas, Venezuela.

<sup>3</sup>Farmacéutico, Máster en Farmacología, Profesor Farmacología Caracas, Venezuela. FM-UCV, Caracas, Venezuela; Médico Residente; Centro Médico Docente Los Altos Carrizal-Miranda.

<sup>4</sup>Clinical Pharmacology Program, Vargas Medical School, Central University of Venezuela, Caracas, Venezuela.

Recibido: 25/07/2010

Aceptado: 20/09/2010

### Resumen

**L**a dopamina (DA) es una amina biogénica sintetizada en varias zonas del sistema nervioso central y periférico. La DA y sus agonistas ejercen un papel importante en la regulación de los sistemas: nervioso central, cardiovascular, renal y hormonal, a través de la estimulación de los receptores alfa y beta adrenérgicos y de receptores dopaminérgicos específicos D1 y D2. La metoclopramida (MTC) bloquea los receptores dopaminérgicos, especialmente los de tipo D2 en el área de excitación de los quimiorreceptores. Al ser la MTC un antagonista dopaminérgico, puede inhibir los efectos agonistas de la DA. Algunos autores han demostrado que los agonistas dopaminérgicos mejoran la hiperglucemia en ratones obesos y diabéticos. Comprobar la interacción entre Metoclopramida-Dopamina y receptor dopaminérgico en variables hemodinámicas no invasivas y metabólicas en sujetos sanos, diabéticos tipo 2 e hipertensos es el objetivo de esta investigación. Se seleccionaron 75 sujetos, entre 30 y 60 años de sexo masculino y femenino, en tres grupos: 25 sujetos sanos, 25 diabéticos tipo 2, y 25 sujetos hipertensos. A la muestra estudiada mediante un diseño cuasi experimental de preprueba-post prueba y 90 minutos de duración, se les aplicó desde el minuto "0" al 30 del protocolo solución fisiológica. Entre el minuto 31 y 60, se administró MTC y entre el minuto 61 y 90 MTC+DA

a dosis de 7,5 µg/kg/min y DA de 1 µg/Kg. Se concluye que MTC produce disminución de la PAS en el grupo de pacientes sanos, descenso significativos se observaron igualmente en pacientes diabéticos e hipertensos. La dopamina (DA) aumento la PAD en pacientes diabéticos e hipertensos. El efecto hipertensor de la dopamina obedece, aparte de su influencia sobre la FC, a un probable efecto vasoconstrictor por acción agonista alfa1. La DA estaría activando el receptor adrenérgico alfa1 a nivel cardíaco y alfa-2 a nivel periférico. La MTC produjo un incremento considerable del pulso en pacientes sanos. La DA elevó en forma significativa la frecuencia del pulso en pacientes sanos, diabéticos e hipertensos. La MTC aumento significativamente la secreción de insulina. La administración conjunta de MTC y DA, estimulo la producción de insulina en forma significativa. Debe dilucidarse si el incremento en la liberación de insulina es por interacción con los receptores dopaminérgico pancreáticos o por la activación de circuitos neurales entero-insulares que interactúan con células Beta pancreáticas o por la activación de circuitos neuroendocrinos.

**Palabras Clave:** Diabetes Mellitus tipo 2, Hipertensión arterial, Dopamina, Receptor Dopaminérgico, Antagonistas Dopaminérgicos, Metoclopramida.

### Abstract

**D**opamine (DA) is a biogenic amine synthesized in several areas of central and peripheral nervous system. The DA and its agonists have an important role in regulating systems: central nervous, cardiovascular, renal, and hormonal, through stimulation of alpha and beta adrenergic and specific dopamine receptors D1 and D2. Metoclopramide (MTC) blocks dopamine receptors, particularly of the D2 in the area of excitation of the chemoreceptors. As the

MTC a dopamine antagonist, can inhibit the effects of DA agonists. Some authors have shown that dopamine agonists improve hyperglycemia in obese and diabetic mice. Check-metoclopramide interaction between dopamine and dopamine receptors in non-invasive hemodynamic variables and metabolism in healthy subjects and hypertensive type 2 diabetic patients is the objective. 75 subjects were selected between 30 and 60 years of male and female, in three groups: 25 healthy subjects, 25 type

2 diabetics, and 25 hypertensive patients. In the sample studied by a quasi-experimental design of pretest post test and 90 minutes, were applied to the minute &quot; 0&quot; to 30 saline protocol. Between 31 and 60 minutes, and MTC was administered between 61 minutes and 90 MTC + DA at doses of 7.5 µg / kg / min and DA of 1 µg / kg. We conclude that MTC produces decrease in SBP in the group of healthy patients, significant decrease was also observed in diabetic and hypertensive patients. Dopamine (DA) increased in PAD patients with diabetes and hypertension. The hypertensive effect of dopamine is due, apart from its influence on heart rate, a likely effect vasoconstrictor effect of alpha1 agonist. Dopamine would activate the alpha1 adrenergic receptor at the cardiac level and alpha-2 at the peripheral level. MTC was a considerable increase of the pulse in healthy patients. Dopamine significantly raises the pulse rate in healthy patients, diabetics and hypertensive. The MTC was significantly increased insulin secretion. The administration of MTC and DA stimulated insulin production significantly. Must be clarified whether the increase in insulin release is dopamine receptor interaction or activation of pancreatic entero-insular neural circuits that interact with pancreatic beta cells or by activation of neuroendocrine circuits.

**Key words:** Type 2 Diabetes Mellitus, Arterial hypertension, Dopamine, Dopamine Receptor, Dopamine Antagonist, Metoclopramide.

## Introducción

La dopamina es una amina biogénica sintetizada en varias zonas del sistema nervioso central y periférico. En investigaciones anteriores del autor<sup>1</sup>, ha sido ampliamente establecido que la dopamina y sus agonistas ejercen un papel importante en la regulación de los sistemas: nervioso central, cardiovascular, renal y hormonal, a través de la estimulación de los receptores  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos y de receptores dopaminérgicos específicos  $D_1$  y  $D_2$ . Velasco y Luchsinger 1996<sup>2</sup>, al realizar una revisión sobre los aspectos farmacológicos y terapéuticos de la dopamina, concluyeron que tanto en el sistema cardiovascular como en el renal, la dopamina en dosis de 0,5-3 µg/kg/min, es capaz de activar dos tipos de receptores dopaminérgicos distintos, los  $D_1$  y los  $D_2$ .

La metoclopramida bloquea los receptores dopaminérgicos, especialmente los de tipo  $D_2$  en el área de excitación de los quimiorreceptores. Al ser la metoclopramida un antagonista dopaminérgico, puede inhibir los efectos agonistas de la dopamina<sup>3</sup>. En los tejidos periféricos la dopamina es el precursor metabólico inmediato de la noradrenalina en las terminaciones nerviosas simpáticas postganglionares. Las acciones periféricas de la dopamina son mediadas a través de la estimulación de receptores adrenérgicos, pero también a través de receptores  $D_1$  y  $D_2$ ; existen numerosas evidencias de la presencia de este tipo de receptores en varios sistemas periféricos<sup>4</sup>; en el sistema cardiovascular y renal han sido reportados en individuos normales y en hipertensos<sup>5,6,7,8,9,10</sup>; producen vaso-

dilatación en los vasos sanguíneos renales, mesentéricos y esplénicos, ejercen un papel modulador a nivel del sistema renina-angiotensina-aldosterona y en el balance de sodio renal<sup>11,12,13</sup>, modulan la liberación de adrenalina en la médula adrenal y la liberación de noradrenalina en los ganglios simpáticos<sup>14</sup>.

La relación entre el sistema dopaminérgico y el sistema hormonal en ratones obesos y diabéticos no está claramente establecida. Liang y col 1988<sup>15</sup> han demostrado que los agonistas dopaminérgicos mejoran la hiperglucemia en ratones obesos y diabéticos. Estos mismos investigadores estudiaron el efecto del tratamiento con los agonistas  $D_2/D_1$ , bromocriptina (BC) y SKF3893 (SKF), sobre la disfunción de los islotes pancreáticos en ratones db/db. Ellos demostraron que el tratamiento con BC/SKF reduce marcadamente la hiperglucemia y mejora significativamente la disfunción pancreática estimulando la secreción de insulina en los islotes pancreáticos del ratón diabético, lo cual fue demostrado mediante la estimulación de la liberación de insulina con secretagogos.

También, Liang y col<sup>15</sup>, observaron un incremento 40 veces mayor del contenido de insulina del páncreas en los ratones tratados con BC/SKF en comparación con los controles no tratados. La bromocriptina y el SKF3893 no tuvieron ningún efecto estimulante directo sobre la secreción de insulina en los islotes pancreáticos, sin embargo, si produjeron un aumento de los corticosteroides plasmáticos, además de una marcada disminución en los niveles de glucosa y de lípidos sanguíneos, sugiriendo que la estimulación de los receptores  $DA_2/DA_1$  con BC/SKF podría afectar el sistema neuroendocrino, el cual a su vez, estimularía el metabolismo periférico y mejoraría en forma indirecta la secreción de insulina por los islotes pancreáticos, hecho confirmado por Martín y col<sup>16</sup>,

Por su parte, Scislowski y col 1999<sup>17</sup>, estudiaron en ratones obesos (ob/ob), el efecto de la administración de bromocriptina y del SKF 3893. Ellos demostraron que la BC y el SKF 3893 administrados durante dos semanas, redujeron en un 55% la ingestión de alimentos y el peso corporal del animal comparado con los ratones controles. Más aún, el consumo de oxígeno se incrementó en 2.4 veces y el cociente respiratorio (RQ) disminuyó de 1,23 a 0,96 ello sugiere una reducción de los niveles de glucosa y ácidos grasos libres. Asimismo, se redujo la lipólisis, la actividad de la enzima lipogénica y la actividad enzimática hepática gluconeogénica. El tratamiento también incrementó las concentraciones de glucógeno hepático y de la xilosa 5 fosfatos, la cual es un estimulador de la glicólisis. Finalmente, los autores observaron que tanto la BC como el SKF, redujeron los niveles de tiroxina y de corticosterona, dos hormonas bien conocidas por su capacidad de incrementar la lipólisis, la liponeogénesis y la hiperglucemia. El tratamiento con estas drogas también incrementó las concentraciones de sulfato de dihidroepiandrosterona (DHEA). Estos resultados demuestran que la estimulación de los receptores  $D_2/D_1$  con bromocriptina y SKF 3893, no solamente normaliza la hiperfagia del ratón obeso sino también, normaliza varias actividades metabólicas y endocrinas de forma independiente a la disminución en el consumo de alimentos.

Dado que la relación entre el sistema dopaminérgico y la actividad de variables metabólicas, no está completamente definida, así como tampoco la especificidad del tipo de receptor dopaminérgico ( $DA_1$  o  $DA_2$ ) involucrado en la regulación hormonal y metabólica en sujetos sanos, ni en sujetos diabéticos tipo 2 o hipertensos y menos en sujetos con ambas condiciones, se plantea el siguiente problema de investigación ¿Cómo inciden Metoclopramida (MTC) y Dopamina (DA) en la liberación de factores hormonales en sujetos diabéticos tipo 2 e hipertensos?. ¿Cuáles son los efectos de drogas dopaminérgicas en las variables hemodinámicas no invasivas de sujetos sanos, diabéticos tipo 2 e hipertensos? Estas interrogantes dieron origen a los objetivos que se señalan a continuación.

### Objetivo General

Comprobar la interacción entre Metoclopramida-Dopamina y el receptor dopaminérgico sobre variables hemodinámicas no invasivas y metabólicas en sujetos sanos, diabéticos tipo 2 e hipertensos.

### Objetivos Específicos

1-. Determinar las características según edad, sexo, HOMA, HbA1c y antropometría del grupo de pacientes Sanos, Diabéticos e Hipertensos en condiciones basales.

2-. Determinar el efecto de MTC y DA sobre variables hemodinámicas no invasivas (Presión Arterial Sistólica, Presión Arterial Diastólica, Presión Arterial Media, y Pulso) en sujetos sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2.

3-. Contrastar, en condiciones basales y post administración, los efectos de la MTC y DA sobre la Glicemia y la Insulina en pacientes hipertensos y diabéticos tipo 2.

# A

objeto de cumplir con los objetivos propuestos, se diseñó una Investigación Cuasi Experimental de preprueba-postprueba, comparativo, transversal. La población objeto del estudio fue seleccionada de la consulta de Diabetes del Departamento de Medicina Interna del Hospital Victorino Santaella ubicado en los Teques, estado Miranda, en el lapso comprendido entre febrero de 2008 y Diciembre de 2009. El muestreo de la investigación es no probabilístico intencional, mediante criterios clínicos de selección, es decir, criterios de inclusión y criterios de exclusión.

Criterios de Inclusión:

Diabetes tipo 2 de 5 años desde el diagnóstico  
Hipertensión arterial en tratamiento desde hace 5 años  
Consentimiento del paciente para participar en el estudio  
Edad mayor de 30 años y menor de 60 años

Criterios de Exclusión:

Hábito alcohólico, Contextura pequeña (peso  $\leq$  a 40 Kg y/o I.M.C  $\leq$ 19)

Enfermedades asociadas: Tirotoxicosis, síndrome de Cushing, artritis reumatoide, anemia hemolítica, hepatopatía, hipoparatiroidismo, enfermedad de Paget, insuficiencia renal terminal, diabetes tipo 1, cardiopatía isquémica aguda, hipertensión arterial con daño a órgano blanco reciente (últimos 6 meses).

Uso de drogas: Levo tiroxina de reemplazo, glucocorticoides, insulina, sildenafil, labetalol, bromocriptina, bloqueadores y estimulantes de receptores adrenérgicos.

La condición de diabetes fue definida a través de los criterios vigentes de la American Diabetes Association para el 2004, ("Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus", 2004)<sup>18</sup>, que son los mismos del Comité de 1997("Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus", 1997)<sup>19</sup> para la clasificación de la diabetes mellitus; e igualmente la condición de hipertensión fue definida con base en las recomendaciones del VII Reporte del Comité Nacional para la Hipertensión (Chobanian et al., 2003)<sup>20</sup>.

El tamaño de la muestra se calculó con la intención de detectar diferencias significativas entre los grupos estudiados, siempre que estas no excedieran el 10%, a su vez, se asume un nivel de significación de la estimación del 5% y una potencia de estudio superior al 80%, serían necesarios 75 pacientes a incluir en el estudio.

De esta manera, se seleccionaron de forma no probabilística intencional, 75 sujetos, mayores de 30 años, y menores de 60 años tanto de sexo masculino como femenino, distribuidos según su condición clínica en tres grupos: 25 sujetos sanos, 25 diabéticos tipo 2, y 25 sujetos hipertensos.

Una vez seleccionada la muestra según criterios clínicos y obtenido el consentimiento informado se paso a la segunda fase del estudio, empleando un diseño cuasi experimental comparativo tipo preprueba-postprueba, con una duración de 90 minutos, aproximadamente durante 12 meses para evaluar todos los pacientes. El día del estudio los sujetos seleccionados acudieron al laboratorio en las siguientes condiciones:

Ayuno de 14 horas.

No haber realizado ejercicio físico el día del estudio ni el día anterior.

Suspender con 5 días de anticipación, tratamiento antihipertensivo. Suspender hipoglicemiantes orales sólo el día del estudio.

En el caso de presentarse algún síntoma que sugiera descompensación (metabólica o hemodinámica) como cefalea, mareos, náusea, taquicardia, disnea u otros antes de la prueba, se evaluó al paciente, y de ser necesario se postergaba el estudio. Los sujetos de investigación fueron examinados de acuerdo al siguiente protocolo:

a) Variables antropométricas

i) Medición de peso con Balanza, con capacidad máxima de 200 Kg. El sujeto debe pesarse desnudo o con prenda interior y descalzo. El resultado fue expresado en kilogramos.

- ii) Con barra de altura en centímetros y pulgadas, rango de altura entre 75 - 200 cm. Medición de talla de pie mediante altímetro de la balanza, con paciente descalzo, con el cuerpo erguido en máxima extensión y cabeza erecta, ubicándose de espalda al altímetro con los pies y rodillas juntas, tocando con los talones el plano del altímetro. Se desciende la escuadra hasta tocar con esta el punto más elevado del cráneo (vértex), el resultado fue expresado en centímetros.
- iii) Índice de masa corporal (IMC): relaciona el peso/altura al cuadrado, siendo el índice más útil de masa corporal relativa en adultos. Se utilizó para definir al paciente según el índice de masa corporal los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud<sup>21</sup>.
- iv) Medición de cintura y cadera y relación cintura abdominal (CA) mediante la siguiente técnica: La medición de la CA se realizó alrededor del paciente parado, con el torso desnudo, sin calzado, con los talones juntos y los brazos colgando en espiración completa. La cinta de medición fue de un material no extensible de 2 metros de largo, de 0,5 cm de ancho, colocada perpendicular al eje longitudinal del cuerpo y horizontal al piso. Se tomó como referencia anatómica para la medición una línea imaginaria en el punto medio entre el reborde costal y la cresta ilíaca antero superior derecha. La medición se realizó 3 veces. Se consideraron como referentes: Circunferencia de cintura  $\geq$  90 cm para hombres y  $\geq$  80 cm para mujeres para la población latinoamericana<sup>22</sup>
- b) Variables cardiovasculares no invasivas
- i) Presión arterial sistólica (PAS), Presión arterial diastólica (PAD) y Presión arterial media (PAM), medida con esfigmomanómetro de mercurio y con Dynamap con manguito de 48 x 14 cm, con paciente sentado y los siguientes requerimientos: No haber fumado ni ingerido café 1 hora previo a la medición de P.A.; Reposo por 10 minutos previo a la toma de P.A. Se realizó medición en el brazo izquierdo en los pacientes diestros y viceversa, a la altura del corazón, apoyándolo en una mesa, se colocó el manguito alrededor del brazo desnudo, entre el hombro y el codo a 2 tras veces del pliegue del brazo. Se identificó y palpó el latido del "pulso braquial". Sobre este latido, se apoyó la campana del estetoscopio. Se repitió el procedimiento en el brazo opuesto para corroborar que los registros fueran simétricos en ambos brazos<sup>23,24</sup>.
- ii) Frecuencia cardíaca con electrocardiograma de 12 derivaciones en reposo.
- c) Variables bioquímicas: Los análisis bioquímicos estudiados, producto de la toma de muestras al minuto 0', 30', 60' y 90' fueron los siguientes:
- 1) Insulina por métodos de RIA, Radio Immune Assay. (Ma et al, 1996; Owen y Roberts, 2004)<sup>25</sup>.
  - 2) Glucemia: método enzimático colorimétrico, kit comercial de CIENVAR, (Bergmeyer, 1972)<sup>26</sup>
  - 3) Hemoglobina glicosilada HbA1c: método de resinas de intercambio iónico enzimático colorimétrico, kit

comercial de Laboratorio Bioscience. (Sacks et al., 2002; Trivelli et al., 1971)<sup>27</sup>.

- 4) HOMA-IR: calculado según modelo matemático (Matthews et al.1985; Turner et al, 1990)<sup>28</sup>.

#### Técnica e Instrumento para la Recolección de Datos

Como técnica de selección de los pacientes se emplearon la Encuesta, y la Observación estructurada o formalizada y técnicamente asistida en un laboratorio preseleccionado. La preselección de los sujetos de investigación, se realizó mediante el empleo del cuestionario de elaboración propia sobre factores de riesgo cardiovascular de la consulta de diabetes (FRCD) del Departamento de Medicina Interna del Hospital Victorino Santaella, previo consentimiento escrito del paciente, en el lapso comprendido entre Febrero de 2008 y Diciembre de 2009.

El cuestionario del estudio incorporó los datos que incluyen: Filiación, antecedentes familiares, actividad física, factores de riesgo cardiovascular: hipertensión, diabetes, dislipidemias, hábito tabáquico, consumo de alcohol, tratamiento dietético y/o farmacológico, examen físico detallado y parámetros analíticos que incluyen hematemetría, glucemia basal, urea y creatinina, serología para VDRL y HIV y tiempos de coagulación, PT y PTT; estos datos fueron utilizados para aplicar posteriormente los criterios de selección. De un total de 120 pacientes preseleccionados con el cuestionario supra, se pasó a la segunda parte del estudio, utilizando los criterios de selección.

Los investigadores realizaron la observación de los sujetos que participaron en el estudio, mediante el empleo de una guía de observación de variables hemodinámicas no invasivas y antropométricas (VNI-A) a objeto de obtener datos medición de PA, Pulso, FC, peso, talla, cintura y cadera asistidos técnicamente con equipos de medición como Esfigmomanómetro, Electrocardiograma, cinta métrica, tallímetro y balanza, todos los equipos previamente calibrados. Los datos fueron registrados en la guía de observación, cumpliendo con la aplicación rigurosa del protocolo de investigación desde el minuto 0 al minuto 90, y su registro metódico con la finalidad determinar hasta qué nivel los procedimientos y la metodología de trabajo que se diseñaron son correctas y están en concordancia con los estándares y parámetros pre establecidos en el protocolo de investigación.

Posterior a la valoración cardiovascular realizada por el investigador, se procedió a la canalización de dos vías periféricas con Jelco® No. 20, en el brazo derecho y con un Jelco® No. 18 en el brazo izquierdo. En el brazo derecho se aplicó, mediante un equipo de infusión, solución fisiológica a 0,90%, con un goteo estándar de mantenimiento de 20 gotas por minuto. En el otro brazo se colocó una llave de tres vías con un catéter más grueso, este sirvió para la extracción segura de las muestras de sangre durante la ejecución del protocolo. Tras la cateterización de las vías periféricas, con el paciente en la camilla, monitor cardíaco y Dynamap® conectado y encendido, se dio inicio al experimento, contándose este tiempo como minuto 0. En este momento se extrajeron 20 cc de sangre, para

ser distribuidos en: 3 tubos secos, 2 tubos con EDTA y un tubo con heparina.

Además, se le realizó un EKG control de 12 derivaciones en el minuto 0 y la toma de presión arterial y FC. Al minuto 30, previa observación, se tomaron nuevamente 20 cc de sangre, con la misma distribución anterior. En este punto, tras realizar otro EKG de 12 derivaciones y la toma de la PA, se cubrió una segunda fase en la que se administró de Metoclopramida (MTC) a razón de 7,5 µg/Kg/min durante 30 minutos. Al minuto 60, previa observación, EKG y medición de la PA, se tomaron nuevamente 20 cc de sangre, igual que en la fase anterior. En este punto, tras realizar otro EKG de 12 derivaciones y la toma de la PA, se pasó a la fase 3, que consistió en la administración de MTC + Dopamina a razón de 0,5 µg/kg/min (MTC + DA) durante los siguientes 30 minutos con idénticos procedimientos de extracción. Diseño Cuasi Experimental: A la muestra estudiada se les aplicó una prueba previa al estímulo o tratamiento experimental, la prueba inicial al minuto "0" del protocolo lo representó la administración de solución fisiológica desde el minuto "0" al minuto 30 del protocolo. Entre el minuto 31 y 60 del protocolo se administro Metoclopramida (Antagonista Dopaminérgico) y finalmente, entre el minuto 61 y 90 del protocolo, se le aplicó a los tres grupos de investigación una prueba posterior al tratamiento, es decir se administró (Metoclopramida + Dopamina).

- Las infusiones intravenosas de dopamina (DA) se realizaron a la dosis de 0.5–1 µg/Kg siguiendo la técnica reportada por Martín y col 1993<sup>29</sup>
- Las infusiones intravenosas de metoclopramida, se realizaron a la dosis de 7.5 µg/Kg/min siguiendo la técnica reportada por Blanco y col 1996<sup>30</sup>
- Se realizaron apropiados controles o placebos por vía intravenosa utilizando solución fisiológica a 0,9% en periodos de igual duración (30 minutos) a dopamina o metoclopramida, (Martín y col 1993<sup>29</sup>).

**Análisis Estadístico y Resultados**

Mediante la estadística descriptiva (media, desviación estándar, frecuencias y porcentajes) se realizó el estudio de las variables hemodinámicas y bioquímicas. Para comprobar si las variables seguían o no una distribución Normal se aplicó la prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnoff para medir normalidad. En el caso de las variables que obedecieron a una distribución Normal se aplicó la prueba "t" de Student para muestras pareadas y para aquellas variables que no atendieron a una distribución Normal se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon.

En este orden de ideas, para evaluar los efectos del placebo, MTC y MTC+ DA, sobre las variables hemodinámicas y bioquímicas y su correspondiente análisis a los minutos 0, 30, 60 y 90, se aplicó la prueba lineal general para medidas repetidas ANOVA.

Los contrastes a posteriori entre los grupos, se basaron en la prueba de Bonferroni; e igualmente, las discrepancias

entre los diferentes puntos de seguimiento se basaron en un contraste lineal. Las correlaciones entre los diferentes puntos se basaron en coeficientes de correlación no paramétricos de tipo seriadas. Finalmente, se consideró como valor estadístico significativo si p < 0,05 y altamente significativo si p < 0,01.

**Tabla 1. Características de la muestra según grupos estudiados.**

Grupos					
Variables	Sanos (1)	Diabéticos (2)	Hipertensos (3)	p	Diferencias entre grupos
N	25	25	25	-	-
Edad (*)	35,6 ± 7,2	44,0 ± 8,4	42,8 ± 7,1	< 0,05	1-2; 2-3
HOMA (*)	1,74 ± 0,95	5,63 ± 3,76	2,41 ± 1,21	< 0,05	1-2; 2-3
HbA-1c (*)	6,31 ± 0,64	7,86 ± 1,62	6,01 ± 0,9	< 0,05	1-2; 2-3
IMC (*)	25,3 ± 3,0	29,6 ± 5,5	28,7 ± 6,1	< 0,05	1-2
ICC (*)	1,00 ± 0,13	0,95 ± 0,06	0,95 ± 0,08	Ns	-
Sexo				Ns	
Masculino	8 (32,0%)	15 (60,0%)	13 (52,0%)		
Femenino	17 (68,0%)	10 (40,0%)	12 (48,0%)		

(\*) Valores expresados como media ± desviación estándar

Se estudiaron 75 pacientes con una edad que oscilo entre 35 y 44 años, fueron evaluados 39 sujetos de sexo femenino y 36 de masculino. El IMC en la población estudiada oscilo entre 25,48 y 27,84 Kg/m2. La Hemoglobina glicosilada A1c vario entre 6,42 y 8,49% en el grupo general. Asimismo, el índice cintura cadera vario entre 1,00 y 0,95 en la población estudiada. Se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la edad, HOMA; HbA1c e IMC.

**Tabla 2. Efectos de MTC y DA sobre variables hemodinámicas No invasivas. Diferencias de los valores de PAS según grupos**

Seguimiento						
Grupos	0' (1)	30' (2)	60' (3)	90' (4)	p	Diferencias entre grupos
Sanos	117 ± 10	118 ± 11	117 ± 23	126 ± 13	< 0,05	2-3; 3-4
Diabéticos	130 ± 14	130 ± 14	126 ± 12	135 ± 21	< 0,05	2-3; 3-4
Hipertensos	145 ± 14	150 ± 18	142 ± 15	149 ± 19	< 0,05	2-3; 3-4

Valores expresados como media ± desviación estándar

Diferencias entre grupos:

A los 0' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 30' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 60' (p < 0,05): Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 90' (p < 0,05): Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

Se estudiaron los 3 grupos (sanos, diabéticos e hipertensos) y en ellos se analizó el comportamiento de la presión arterial sistólica observándose: la variable PAS evidencio diferencias estadísticamente significativas dentro de los grupos (p< 0,05); al comparar sanos vs diabéticos en los cuatro puntos del estudio se registraron diferencias significativas. Al contrastar la condición MTC (minuto 60') vs. MTC +DA (minuto 90'), se observaron diferencias igual-



mente significativas. El descenso de la PAS al minuto 60 en los tres grupos, así lo demuestra. No obstante, el mismo se revirtió al minuto 90, momento en el cual se evalúa el efecto de DA. No fue estadísticamente significativo; al igual que el cambio observado entre el minuto 60 y 90 respectivamente. El grupo de pacientes sanos muestra la mayor variación en la PAS al minuto 90.

**Tabla 3. Efectos de MTC y DA sobre variables hemodinámicas No invasivas. Diferencias de los valores de PAD según grupos**

Seguimiento						
Grupos	0' (1)	30' (2)	60' (3)	90' (4)	p	Diferencias entre grupos
Sanos	72 ± 9	73 ± 8	69 ± 9	75 ± 11	ns	-
Diabéticos	81 ± 9	80 ± 9	77 ± 10	79 ± 9	< 0,05	2-3
Hipertensos	89 ± 10	92 ± 9	89 ± 10	93 ± 10	< 0,05	2-3; 3-4

Valores expresados como media ± desviación estándar

Diferencias entre grupos:

A los 0' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 30' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 60' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 90' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

La variable PAD no muestra diferencias estadísticas significativas en el grupo de sanos, Las diferencias entre grupos resultaron ser estadísticamente significativa (p = 0,05). Al estudiar los grupos en función de la condición Placebo, MTC y MTC+DA, se observaron diferencias estadísticamente significativas. El descenso de la PAD observado al minuto 60 (Efecto MTC) se revierte al minuto 90 (MTC + DA) en los 3 grupos de estudio.

**Tabla 4. Efectos de MTC y DA sobre variables hemodinámicas No invasivas. Diferencias de los valores de PAM según grupos**

Seguimiento						
Grupos	0' (1)	30' (2)	60' (3)	90' (4)	p	Diferencias entre grupos
Sanos	90 ± 8	88 ± 18	88 ± 11	89 ± 9	ns	-
Diabéticos	99 ± 11	98 ± 9	95 ± 9	98 ± 11	< 0,05	2-3; 3-4
Hipertensos	107 ± 9	110 ± 8	106 ± 10	108 ± 12	< 0,05	2-3

Valores expresados como media ± desviación estándar

Diferencias entre grupos:

A los 0' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 30' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 60' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 90' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

La variable PAM no muestra diferencias estadísticas significativas en el grupo de pacientes sanos. Las diferencias entre grupos resultaron ser estadísticamente significativa (p = 0,05). Al estudiar los grupos en función de la condición Placebo, MTC y MTC+DA, es decir, minuto 30, 60 y 90, se observaron diferencias estadísticamente significativas. El descenso de la PAM observado al minuto 60 (Efecto MTC) se revierte al minuto 90 (MTC + DA) en los 3 grupos de estudio.

**Tabla 5. Efectos de MTC y DA sobre variables hemodinámicas No invasivas. Diferencias de los valores de pulso según grupos**

Seguimiento						
Grupos	0' (1)	30' (2)	60' (3)	90' (4)	P	Diferencias entre grupos
Sanos	77 ± 12	73 ± 19	81 ± 13	85 ± 13	< 0,05	Todos
Diabéticos	80 ± 13	78 ± 14	79 ± 12	84 ± 12	< 0,05	2-4; 3-4
Hipertensos	68 ± 8	70 ± 9	71 ± 8	79 ± 12	< 0,05	2-3; 2-4; 3-4

Valores expresados como media ± desviación estándar

Diferencias entre grupos:

A los 0' (p < 0,05): Sanos vs Hipertensos

A los 30' (p = ns)

A los 60' (p < 0,05): Sanos vs Hipertensos

A los 90' (p = ns)

La variación entre grupos resultó ser estadísticamente significativa en cada caso (p < 0,05). Las pruebas de contrastes entre los tiempos (0, 30, 60 y 90 minutos) resultaron estadísticamente significativas. La condición MTC (60') evidenció un incremento considerable del pulso (p < 0,05) al comparar sanos vs hipertensos. Al minuto 90 (MTC + DA) se obtiene un incremento del pulso al comparar el grupo de hipertensos desde el minuto 0. Cabe destacar que no se registraron cambios significativos en el segmento ST y onda en el electrocardiograma de los pacientes estudiados.

**Tabla 6. Efectos de MTC y DA sobre variables metabólicas Variación de la concentración de glicemia según grupos**

Seguimiento						
Grupos	0' (1)	30' (2)	60' (3)	90' (4)	P	Diferencias entre grupos
Sanos	86 ± 9	98 ± 21	113 ± 26	145 ± 21	< 0,05	Todos
Diabéticos	121 ± 42	118 ± 35	126 ± 39	164 ± 29	< 0,05	Todos
Hipertensos	91 ± 11	103 ± 20	115 ± 26	156 ± 31	< 0,05	Todos

Valores expresados como media ± desviación estándar

Diferencias entre grupos:

A los 0' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos; Sanos vs Hipertensos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 30' (p < 0,05): Sanos vs Diabéticos

A los 60' (p = ns)

A los 90' (p = ns)

Se observaron diferencias significativas (p < 0,05) para la Glicemia: en los grupos Sanos y Diabéticos e hipertensos a los 0, 30, 60 y 90 minutos del estudio. Se observaron diferencias significativas (p < 0,05) para la Glicemia: en los grupos Sanos vs Diabéticos, Sanos vs Hipertensos

y Diabéticos vs hipertensos al minuto 0. Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la Glicemia: en los grupos Sanos vs Diabéticos al minuto 30 del estudio. No se observaron diferencias significativas al minuto 60 y 90 del estudio.

**Tabla 7. Efectos de MTC y DA sobre variables metabólicas**  
**Diferencias de los valores de insulina según grupos**

Grupos	Seguimiento				p	Diferencias entre grupos
	0' (1)	30' (2)	60' (3)	90' (4)		
Sanos	8,0 ± 3,8	13,8 ± 6,6	19,9 ± 10,0	26,3 ± 9,4	< 0,05	Todos
Diabéticos	19,2 ± 12,7	14,5 ± 6,4	17,8 ± 7,6	22,8 ± 11,6	< 0,05	Todos
Hipertensos	10,6 ± 5,0	13,1 ± 6,5	17,3 ± 14,2	24,4 ± 15,7	< 0,05	Todos

Valores expresados como media ± desviación estándar

Diferencias entre grupos:

A los 0' ( $p < 0,05$ ): Sanos vs Diabéticos; Diabéticos vs Hipertensos

A los 30' ( $p = ns$ )

A los 60' ( $p = ns$ )

A los 90' ( $p = ns$ )

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la Insulina: en los grupos Sanos, Diabéticos e hipertensos a los 0, 30, 60 y 90 minutos del estudio.

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la Insulina: en los grupos Sanos vs diabéticos y diabéticos vs Hipertensos a los 0 minutos.

No se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la Insulina al contrastar los grupos a los 30, 60 y 90 minutos.

## Discusión

La variable Presión Arterial Sistólica PAS evidenció diferencias estadísticamente significativas dentro de los grupos Sanos, Diabéticos e Hipertensos ( $p < 0,05$ ); Al contrastar la condición MTC (minuto 60) vs. MTC +DA (minuto 90), se observaron diferencias igualmente significativas. El descenso de la PAS al minuto 60 en los tres grupos, así lo demuestra. No obstante, el mismo se revirtió al minuto 90, momento en el cual se evaluó el efecto de dopamina. El grupo de pacientes sanos muestra la mayor variación en la PAS al minuto 90. Estos resultados concuerdan con hallazgos similares obtenidos en estudios previos del autor y otros. Blanco M y col 1996<sup>30</sup>, al evaluar sujetos normotensos e hipertensos obtuvieron una disminución significativa de la PAS al administrar MTC a dosis de 7,5  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ . Igualmente, Blanco y col (2000)<sup>31</sup> en su investigación para evaluar el efecto de Metoclopramida en mujeres embarazadas, con criterios de hipertensión inducida por el embarazo, utilizando Metoclopramida por vía i.v a dosis equivalente a 0.5 mg/ml/min por 20 min; demostró el efecto hipotensor de metoclopramida sin provocar cambios en la frecuencia cardíaca en mujeres hipertensas en puerperio inmediato.

En otro estudio, Contreras y col (2004)<sup>32</sup> utilizando Metoclopramida (MTC) un bloqueador de la dopamina al actuar sobre el receptor D2 periférico, a la dosis intravenosa de 7,5  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  durante un período de 30 minutos, y dopamina a la dosis intravenosa de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  añadido a la infusión de metoclopramida, durante un segundo período de 30 min, observó que la MTC disminuyó la presión arterial y frecuencia cardíaca de manera significativa a partir de los 5 minutos de infusión del medicamento. Con lo cual queda demostrado que efectivamente MTC produce disminución de la PAS hasta de 9 mm de Hg en el grupo de pacientes sanos, descenso significativo se observaron igualmente en pacientes diabéticos e hipertensos.

La administración simultánea de MTC a dosis de 7,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  y DA a dosis de 1  $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$  antagonizó los efectos de MTC y el efecto hipotensor observado al minuto 60, se revirtió, observándose un aumento significativo de la PAS. Es sabido que la DA produce disminución de la PAS dependiendo de la dosis y del pre tratamiento del paciente con bloqueantes alfa adrenérgicos como el Labetalol (droga con efecto antagonista alfa y beta adrenérgico a dosis de 800 a 1200 mg/día por vía oral durante una semana previa al estudio) como lo demostró Martin y col (1995)<sup>33</sup> en su estudio.

Los efectos observados en PAS, son similares a los observados en PAD y PAM; es decir, la MTC disminuyó la PAD (minuto 60), y el efecto es revertido al minuto 90 (MTC + DA). Por su parte Dopamina (DA) no modificó significativamente la PAD en pacientes sanos pero si aumento la PAD en pacientes diabéticos e hipertensos, hallazgos que concuerdan con los resultados obtenidos por Contreras y col. (2005)<sup>34</sup>. Los resultados reportados por los autores evidenciaron: que la Metoclopramida reduce la presión arterial sistólica, diastólica y media. Por otra parte, al adicionar dopamina en los sujetos pretratados con Metoclopramida se registró un incremento de la presión arterial especialmente en los hipertensos.

Es evidente que el efecto hipotensor de la dopamina obedece, aparte de su influencia sobre la FC, a un probable efecto vasoconstrictor por efecto agonista alfa<sub>1</sub>. La activación de estos receptores causa vasoconstricción de muchos vasos sanguíneos incluyendo los de la piel, riñón y el cerebro. Dado que la dopamina activa el receptor dopaminérgico, los receptores adrenérgicos beta y los receptores adrenérgicos alfa, se concluye que la dopamina estaría activando el receptor adrenérgico alfa<sub>1</sub> (a nivel cardíaco) y el receptor adrenérgico alfa<sub>2</sub> (musculo liso periférico)<sup>35</sup>.

Se evidencio, que el efecto de MTC (minuto 60) produjo un incremento considerable del pulso ( $p < 0,05$ ) al pasar de 73 a 81 Latidos Por Minuto (LPM) (Tabla-5) en el grupo de pacientes sanos. En los pacientes hipertensos y diabéticos el incremento fue de 1 LPM. La combinación de MTC y DA (minuto 90) demuestra un aumento significativo del pulso arterial; hallazgos que coinciden con los resultados reportados por Contreras y col. (2005)<sup>34</sup>, los cuales observaron un incremento de la frecuencia del pulso (LPM) atribuible a la dopamina, resultado este de la activación del receptor dopaminérgico y/o activación del receptor adrenérgico beta1.

Por otra parte, se observó un incremento significativo en los valores de insulina desde el minuto 30 hasta al minuto 60 del protocolo en sujetos sanos, diabéticos e hipertensos (tabla 7). La administración de MTC (Antagonista Dopaminérgico), aumentó en forma significativa la secreción de insulina.

Los hallazgos reportados concuerdan con los resultados reportados por D Kopf, M G y col (Exp Clin Endocrinol Diabetes 2005)<sup>36</sup>, al evaluar los efectos de los fármacos antipsicóticos atípicos olanzapina y amisulprida en la sensibilidad y la secreción de la insulina. La administración de amisulprida, un antagonista selectivo de receptores D2 y D3, demostró que la secreción del péptido C durante el clamp hiperglucémico fue significativamente mayor después de la administración de la amisulprida que después de la olanzapina o placebo, hallazgos que se mantuvieron tanto para la fase inicial y para la segunda fase de la secreción de insulina.

Al administrar MTC + DA, minuto 60 al minuto 90 del protocolo (tabla 7) se observó un incremento significativo en los valores de insulina. La administración conjunta de Dopamina (agonista dopaminérgico) a razón de 1 µg/Kg, y MTC (antagonista dopaminérgico) a dosis de 7,5 µg/kg/min estimuló la producción de insulina.

Estos resultados coinciden con Hallazgos aportados por Umrani y Goyal<sup>37</sup>, quienes evidencian que existe una estrecha relación entre la dopamina y la diabetes mellitus. Ellos estudiaron el efecto del Fenoldopam (agonista de los receptores periféricos selectivos de la dopamina D1) en la función renal de ratas diabéticas tipo 2, para lo cual se administró un tratamiento de seis semanas con fenoldopam a razón de 1 mg / kg, todos los días. Durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (SOG), las ratas diabéticas mostraron incremento en el AUC (glucosa) y en la insulina AUC. El tratamiento con fenoldopam (ratas diabéticas inducidas por streptozotocin) disminuyó significativamente la glucemia, colesterol, triglicéridos, urea, creatinina, y la presión arterial. Fenoldopam disminuyó significativamente el AUC (glucosa). Las ratas diabéticas mostraron un menor índice de sensibilidad a la insulina; aumentó significativamente la producción de orina, así como el sodio urinario indicando reducida retención de sodio. Estos datos indican que el tratamiento con fenoldopam mejora la sensibilidad periférica a la insulina y la función renal en ratas diabéticas tipo 2.

Por otra parte, Gaziano y col<sup>38</sup>, presentaron resultados preliminares del uso del Cycloset(TM), una formulación oral de liberación rápida de bromocriptina, agonista receptor D2 de la dopamina de actuación central<sup>38</sup>. Los investigadores apuntan que al suministrarse como dosis diaria de una sola toma (mañana), Cycloset(TM) actúa en las actividades neuronales circadianas del hipotálamo, por lo cual resulta útil para restablecer la conducción hipotalámica anormalmente elevada, así como también para incrementar la glucosa del plasma, triglicéridos y niveles de ácidos grasos libres en los estados de ayuno y postprandiales en sujetos resistentes a la insulina.

Los resultados de los estudios clínicos publicados indican que el tratamiento con Cycloset(TM) podría mejorar la hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, hiperlipidemia o aspectos de la resistencia a la insulina, al mismo tiempo que mantiene la neutralización de las grasas corporales o induce a la reducción de las grasas corporales. Cycloset (TM) está actualmente en fase de investigación como terapia potencial para la diabetes de tipo 2, y ha sido estudiada en varios ensayos en Fase II y tres ensayos en Fase III<sup>38</sup>.

Según Bello y Hajnal<sup>39</sup>, los sistemas dopaminérgicos se han implicado en la diabetes y la obesidad<sup>57</sup>. Las modificaciones a corto plazo de la glucosa en sangre, junto con la hiperinsulinemia aguda afectan el sistema mesoaccumbens dopamina.

Igualmente, Contreras y col. (2006)<sup>40</sup>, 2008<sup>41</sup>, (2010)<sup>42</sup> concluyen que las drogas dopaminérgicas (MTC y DA), interactúan con receptores dopaminérgicos periféricos, incrementando la insulina plasmática; y, al actuar sobre receptores dopaminérgicos cardiovasculares, modifican las variables hemodinámicas, modificación que es atenuada en pacientes diabéticos, probablemente por disfunción endotelial y disautonomía simpática.

La relación entre Dopamina (agonista dopaminérgico) y Metoclopramida (antagonista dopaminérgico) para modificar la secreción de insulina es posible plantearla mediante circuitos neurales entero-insulares que interactúan con células Beta pancreáticas y el sistema nervioso simpático y parasimpático (vía glándula suprarrenal). En los tejidos periféricos la dopamina es el precursor metabólico inmediato de la noradrenalina y en las terminaciones nerviosas simpáticas postganglionares. La adrenalina estimula las células Beta pancreáticas a través de receptores Beta-2, fomentando la liberación de insulina. La estimulación de receptores adrenérgicos alfa 2, por la noradrenalina, inhiben la liberación de insulina. La Dopamina secretada por las glándulas suprarrenales, mediante la adrenalina excita las células Beta pancreáticas, los nervios parasimpáticos enterocromafines (CE) y las células que secretan 5-hidroxitriptamina (5-HT), de esta forma, la Dopamina influye en la secreción de insulina pancreática.

## Conclusiones

1. MTC produce disminución de la PAS hasta de 9 mm de Hg en el grupo de pacientes sanos, descenso significativo se observaron igualmente en pacientes diabéticos e hipertensos.
2. Dopamina (DA) no modificó significativamente la PAD en pacientes sanos pero si aumento la PAD en pacientes diabéticos e hipertensos. El efecto hipertensor de la dopamina obedece, aparte de su influencia sobre la FC, a un probable efecto vasoconstrictor por efecto agonista alfa<sub>1</sub>. Dopamina podría estar activando el receptor adrenérgico alfa<sub>1</sub> a nivel cardíaco y alfa<sub>2</sub> a nivel periférico.
3. MTC produjo un incremento considerable del pulso al pasar de 73 a 81 LPM en pacientes sanos, no así, en pacientes diabéticos e hipertensos.

4. Dopamina eleva en forma significativa la frecuencia del pulso en pacientes sanos, diabéticos e hipertensos.
5. La administración de MTC (antagonista dopaminérgico), aumento en forma significativa la secreción de insulina.
6. La administración conjunta de MTC (antagonista dopaminérgico) a dosis de 7,5 µg/kg/min y Dopamina (agonista dopaminérgico) a razón de 1 µg/Kg, estimulo la producción de insulina en forma significativa.
7. Debe dilucidarse si el incremento en la liberación de insulina es por interacción con receptores dopaminérgicos pancreáticos o activación de circuitos neurales entero-insulares que interactúan con células Beta pancreáticas o por activación de circuitos neuroendocrino.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH-UCV) a través del Proyecto de grupo N° PG-09-6593-2006-2007. I y II Etapa Titulad: Efectos de Metoclopramida y dopamina sobre variables hemodinámicas y sus implicaciones sobre el sistema hormonal y endotelial en sujetos sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2.

## Referencias

1. Contreras F, Fouilloux C, Bolívar A, et al; Dopamine, Hypertension and Obesity. *J Hum Hypertens*. 2002 Mar; 16 Suppl 1:S13-7.
2. Velasco M & Luchsinger A. Dopamine: Pharmacological and therapeutics aspects. *Arch Ven de Farmacol y Terap* 1996; 15: 5-10.
3. Goodman, G. y Gilman, G. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 10ª Edición. 2005. México: McGraw- Hill.
4. Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M & Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. 1998. *Physiol Rev* 78(1):189-225.
5. Goldberg LI & Rajfer EI. Dopamine receptors: applications in clinical cardiology. *Circulation* 1985; 72:245-248.
6. Missale C, Castelletti L, Memo M, Carruba O & Spano PF. Identification of postsynaptic D1 and D2 dopamine receptors in the cardiovascular system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 11:643-650.
7. Amenta F, Collier WL & Ricci A. Autoradiographic localization of vascular dopamine receptors. *Am J Hypertens*. 1990; (Suppl 3): 345-36S.
8. Luchsinger A, Grilli M & Velasco M. Metoclopramide and domperidone block the antihypertensive effect of bromocriptine in hypertensive patients. *Am J Therap* 1998; 5:81-88.
9. Murphy MB. Dopamine: a role in the pathogenesis and treatment of hypertension. *Journal of Human Hypertens* 2000; 14(51): 47-50.
10. Velasco M & Luchsinger A. Dopamine: Pharmacologic and therapeutic aspects. *Am J Ther* 1998; 5:37-43.
11. Luchsinger A, Velasco M, Urbina A, Morillo J, Romero E, Alvarez R & Hernández Pieretti O. Comparative effects of dopaminergic agonists on cardiovascular, renal and renin-angiotensin systems in hypertensive patients. *J Clin Pharmacol* 1992; 32(1):55-60.
12. Amenta F & Ricci A. Autoradiographic localization of dopamine receptors in the human's adrenal cortex. *Eur J Endocrinol* 1994; 131: 91-96.
13. Missale C, Lombardi C, De Cortis R, Memo M, Caruba MO & Spano PF. Dopaminergic mechanism modulating the renin-angiotensin system and aldosterone secretion. An overview. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1989; 14 (Suppl 1):S29-S39.
14. Velasco M, Tjandramaga TB & McNay JI. Differential dose related effects of dopamine on systemic and renal hemodynamics in hypertensive patients. *Clin Res* 1974; 22:308A.
15. Liang Y, Jetton TL, Lubink M, Meir AH & Cincotta AH. Bromocriptine/SKF3893 ameliorates islet dysfunction in the diabetic (db/db) mouse. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54: 703-711.
16. Martin G, Forte P, Luchsinger A, Mendoza F, Urbina Quintana A, Hernández Pieretti O, Romero E & Velasco M. Effect of intravenous dopamine on blood pressure and plasma insulin in hypertensive patients. *Eur J Clin Pharmac* 1993; 45: 503-505.
17. Scislawski PW, Tozzo E, Zhang Y, Phaneuf S, Prevelige R & Cincotta AH. Biochemical mechanisms for the attenuation of diabetic and obese conditions in ob/ob mice treated with dopaminergic agonist *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 425-431.
18. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. (2004). *Diabetes Care*; 27(90001): 5S-10.
19. The expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus "Report of expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus" *Diabetes Care* 1997; 21(1): 5-19.
20. Chobanian, A. V., Bakris, G. L., Black, H. R., Cushman, W. C., Green, L. A., Izzo, J. L., Jr., et al. (2003). Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*; 42(6): 1206-1252.
21. Roche AF Anthropometrics methods: new and old what they tell us. *Obesity*, 1984, 8:509-523.
22. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. *Circulation* 2005; 112:2735-52
23. Freddy Contreras; María Rivera; María de la Parte; Solangel Rodríguez; Olly Méndez; Papapietro Ana et al; Valoración del Paciente Hipertenso. *Rev. Facultad de Medicina-UCV*, 2000; 23: 11 - 18.
24. Fragachan F, Chuki E., y Sanabria A. (2001). Manual de Normas y Procedimientos para el estudio del paciente con presión arterial elevada: Hipertenso. Primera Edición. Editorial Olympia. Caracas.
25. Owen WE, y Roberts WL. Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. *Clin Chem*; 2004; 50(1): 257-259.
26. Bergmeyer, H. U. (1972). Standardization of enzyme assays. *Clin Chem*; 18(11): 1305-1311
27. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, y Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem*. 2002; 48(3): 436-472.
28. Matthews et al. 1985; Turner et al, 1990)27.
29. Martin G, Forte P, Luchsinger A, Mendoza F, Urbina Quintana A, Hernández Pieretti O, Romero E, Velasco M. Effect of intravenous dopamine on blood pressure and plasma insulin in hypertensive patients. *Eur J Clin Pharmac* 1993; 45:503-505.
30. Blanco M, Jelambi Y, Perez G, Gomez J, Franco T, Hurtado N, Velasco M. The effect of intravenous metoclopramide on blood pressure in normotensive and hypertensive subjects. *Int J Clin Pharmac Ther* 1996; 34: 390-392.

31. Blanco M, Vásquez M, Trías Y, Serrano L, Blanco G y Velasco M. Efecto de Metoclopramida en Mujeres Hipertensas en Puerperio Inmediato. AVFT. [Online]. Ene. 2000, vol.19, no.1 [citado 20 Mayo 2010], p.62-64. Disponible: [www.http://revistaavft.com/avft](http://revistaavft.com/avft).
32. Contreras F, Cabezas GA et al. Dopaminergic modulation on the cardiovascular responses in hypertensive subjects American Journal of Hypertension 17, 142A. May 2004.
33. Martín G. Efectos cardiovasculares y hormonales de drogas dopaminérgicas en pacientes hipertensos. Trabajo de Ascenso Académico presentado ante la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, septiembre, 1995.
34. Contreras F, Cabezas GA et al. Dopamina ¿Modulador de la respuesta cardiovascular en sujetos hipertensos? Arch Venez de Farmacología y Terap. 2005; 24(1):50-60.
35. Velasco M, Urbina Quintana A, Andrews-Figueroa P, Nieves D, Hernández hernandez-Pieretti O. Effect of the adrenergic blockers propranolol on the cardiovascular response to cold in hypertensive patients. Clin Pharmac Ther. 1982; 32:7-11.
36. D Kopf, M G y col (Exp Clin Endocrinol Diabetes 2005)
37. Umrani, DN & Goyal, RK. Fenoldopam mejora la sensibilidad periférica a la insulina y la función renal en ratas diabéticas tipo 2 inducidos por STZ. 2003. Clin Exp Hypertens. 25 (4):221-33.
38. Gaziano JM, Ezrokhi M, Cincotta AH & Scranton RE. Effects of Timed Cycloset(TM) (A Quick Release Formulation of Bromocriptine Mesylate) Administration on Safety, Cardiovascular Event Rate, and Glycemic Control in Subjects with Type 2 Diabetes Receiving Diet, Oral Hypoglycemic, and/or Insulin Treatment Regimens. 67 Sessions Scientifics de la American Diabetes Association. Chicago, Junior 2007.
39. Bello N & Hajnal A; Alterations in blood glucose levels under hyperinsulinemia affect accumbens dopamine. Physiol Behav. 2006 June 15; 88(1-2): 138-145.
40. Freddy Contreras, Christian Fouilloux, Betsy Pacheco, Charbel Maroun, Héctor Bolívar, Mary Lares y Manuel. Velasco. Relación entre dopamina e Insulina en sujetos sanos y diabéticos tipo 2. Arch Venez de Farmacología y Terap. 2006; 25(1):104-109.
41. Contreras F, Fouillioux C, Pacheco B, Maroun C, Bolívar H, Lares M, Leal E, Cano R, Bermúdez V y Velasco M. Effect of drugs interacting with the dopaminergic receptors on glucose levels and insulin release in healthy and type 2 diabetic subjects. AmJ Ther. 2008 Jul-Aug; 15 (4):397-402.
42. Contreras F, Fouillioux C y col. Effects of Metoclopramide and Metoclopramide/Dopamine on Blood Pressure and Insulin Release in Normotensive, Hypertensive, and Type 2 Diabetic Subjects. Am J Ther 2010: 320-324.

Ahora más fácil y rápido  
a la web de la revista

Archivos  
Venezolanos  
de Farmacología y Terapéutica



[www.revistaavft.com](http://www.revistaavft.com)

# Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and acute myocardial infarction. A case - control study in Venezuela

Carolina Pestana<sup>1</sup>; Mary Lares<sup>2,3</sup>; Sara Brito<sup>2</sup>, Antonietta Porco<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular Humana B, Departamento de Biología Celular, Universidad Simón Bolívar (USB), Caracas-Venezuela.

<sup>2</sup>Servicio de Endocrinología, Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo, Caracas-Venezuela.

<sup>3</sup>Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela (UCV), Caracas-Venezuela.

Corresponding author: Prof. Dr. Antonietta Porco Giambra, Laboratorio de Genética Molecular Humana B. Departamento de Biología Celular. Universidad Simón Bolívar. Apartado 89000. Caracas 1080-A, Venezuela. Telfax: +58-212-9064217; e-mail: aporco@usb.ve

Recibido: 13/07/2010

Aceptado: 18/09/2010

53

## Abstract

**Objective:** Detection of the ACE I/D polymorphism genotype and the association with essential hypertension and acute myocardial infarction (AMI) in the Venezuelan population. **Methods:** Samples from 200 patients with AMI and 200 control subjects were analyzed for genotyping ACE I/D polymorphism. A subset of 82 samples underwent the determination of angiotensin II levels (pg/ml). **Results:** The frequency for the heterozygous ID was 52.50% vs 44.50% and 26.50% vs 36.00% for DD homozygous individuals for AMI and control groups respectively. The D allele frequency was very similar for both populations (0.535 for AMI vs 0.583 for control subjects). The OR for AMI in carriers for the D allele was 0.91 (95% CI: 0.54-1.53,  $p > 0.05$ ). We found a 2.66 fold increased risk between individuals belonging to the AMI group (OR= 2.66, 95% CI: 1.33-5.31,  $p < 0.05$ ) and an 8.46 fold increased risk for AMI in hypertensive individuals (OR=8.46, 95% CI: 5.24-1368;  $p < 0.05$ ). Finally, we detected a statistically significant difference in angiotensin II levels between individuals with DD and II genotypes ( $6.59 \pm 2.93$  pg/ml DD genotype vs  $4.26 \pm 1.40$  pg/ml II genotype,  $p < 0.05$ ). **Conclusions:** We did not find the ACE genotype as a marker for AMI; but we found a statistically significant increased risk between hypertensive individuals carrying the D allele belonging to the AMI group. The lack of direct association between D risk allele and the AMI could be due to the well known multifactorial nature of this pathology.

**Key Words:** I/D polymorphism, ACE gene, angiotensin II, AMI

## Introduction

**H**ypertension is a major public health concern world-wide; it is a major modifiable risk factor of morbidity and mortality from cardiovascular causes. It is well known that hypertension is a multifactorial and polygenic disorder in which the interaction between several candidate genes and environmental factors play an important role. It has been suggested that the role of hypertension in the pathogenesis of cardiovascular disease is due to the endothelial dysfunction, which is recognized as the initial state in the progress of the pathology<sup>1</sup>. One factor that contributes to development of both hypertension and endothelial dysfunction is the activation of the tissue renin-angiotensin system<sup>2,3</sup>, which is an important regulatory mechanism for maintaining normal blood pressure and volume and electrolyte balance. For these reasons, genes coding for components of this system are attractive candidates for the investigation of the genetic basis of essential hypertension. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) is a key enzyme in this system, which catalyzes the conversion of angiotensin I to angiotensin II, a potent vasopressor<sup>4</sup>; so, any alteration in ACE activity may cause many pathological conditions including vasoconstriction, coronary thrombosis, heart failure and ventricular remodeling<sup>5</sup>.

ACE plasma levels variability has been reported to be associated with the insertion/deletion (I/D) polymorphism of a 287 pair an Alu repeat sequences in intron 16 of the ACE gene, located at chromosome 17q23<sup>6,7,8</sup>, which results in three genotypes as II, DD and ID<sup>6,9</sup>. Various studies have shown association between the risk allele (D) and several cardiovascular diseases like myocardial infarction,<sup>10,11</sup> left ventricular hypertrophy<sup>12</sup>, cardiomyopathy<sup>13</sup> and hypertension<sup>14-19</sup>. In addition to these studies that make

a positive correlation between the D allele for ACE I/D polymorphism and hypertension in various populations, others have been reported a negative association<sup>20-24</sup>. It has been postulated that the association between the D allele of the polymorphism and hypertension might be related to gender and ethnicity<sup>15,25</sup>. However, to date no study of this type has been conducted in Venezuela, where the prevalence rates of hypertension (25%) are approximated to the worldwide prevalence (26%)<sup>26</sup>. The present study was initiated to determine whether D allele of the ACE I/D polymorphism are associated with essential hypertension and with acute myocardial infarction in the Venezuelan population.

### Subjects

The complete sample comprises 400 subjects that were classified in two groups: 200 patients with acute MI (AMI; diagnosed by the presence of increased creatine kinase [CK] with CK-MB >10% and increased troponin I, typical electrocardiographic alteration and evidence of clinical symptoms) and 200 control subjects randomly selected, unrelated and apparently healthy without personal and family history of vascular, arterial or thromboembolic disease. Peripheral blood was collected from all subjects between January 2009 and January 2010, after a signed consent was obtained. A standard pro-forma was filled up with special emphasis on age, gender, smoking (current smokers or non-smokers), presence of hypertension (defined as a use of antihypertensive drugs or by a systolic blood pressure of at least 140 mm Hg and/or a diastolic blood pressure at least 90 mm Hg)<sup>27</sup> and diabetes mellitus (defined by a blood glucose level of at least 6.93 mmol/L)<sup>28</sup> for all subjects. Blood from AMI patients was provided by the "Servicio de Endocrinología y Cardiología del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo" (Caracas, Venezuela).

### Genotyping of the ACE gene Alu I/D polymorphism

Genomic DNA was extracted from total peripheral blood as described by Bowen and Keenney<sup>29</sup>. ACE genotyping for the Alu I/D polymorphism was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification of the respective fragments from intron 16 of the ACE gene using the primers: ACE-Fwd1 5'-CTGGAGAGCCACTCCCATCCTTTCT-3' and ACE-Rev1 5'-GACGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3' (modified from Acartürk et al.<sup>11</sup>). The insertion allele (I) was detected as a 490 bp DNA fragment, and the deletion allele (D) was detected as a 190 bp DNA fragment. Because the D allele in heterozygous samples is preferentially amplified and to prevent underestimation of heterozygous and overestimation of DD genotype, each DD type was subjected to a second, independent PCR amplification with a primer pair that recognizes an insertion-specific sequence: ACE-Fwd2 5'-TGGGACCACAGCGCCGCGCCACTAC-3' and ACE-Rev2 5'-TCGCCAGCCCTCCATGCCATAA-3', that yields a 335 bp fragment only in the presence of an I allele, and no product in samples homozygous for DD<sup>30</sup>. The first PCR was performed using 60 ng of genomic DNA in a 20 µL PCR reaction containing 0.025 U/µL of Taq DNA polymerase, 1.0 pmol/µL of each primer, 0.2 mM deoxynucleotide triphosphates (dNTPs), 2

mM MgCl<sub>2</sub>, and 1X Taq polymerase buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.3 and 50 mM KCl). Thirty five cycles were performed following denaturation step at 95°C for 10 min. Each cycle consisted of incubations at 95°C for 1 minute, 58°C for 1 minute and 72°C for 1 minute. A final extension step was carried out at 72°C for 5 min. The second PCR was performed with identical PCR conditions except for an annealing temperature of 67°C. PCR products were analyzed by 2.5% agarose gel electrophoresis containing SYBR Safe (1X). Gel images were documented by using a digital camera (Fotodyne) equipped with ultraviolet filters, and the intensities of electrophoretic signals were estimated by Foto Analyst PC Image program.

### Biochemical Measurements

Blood samples are collected in tubes kept at 4°C containing EDTA. The samples are centrifuged at 2000 g for 15 minutes. The plasma extracted should be stored at -20°C until biochemical determination. Angiotensin II levels were measured with enzyme immunoassay (EIA) according to kit SPIbio.

### Statistical Analysis

Statistical analysis was performed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 9.0. Values of continuous variables were expressed as means ± standard deviations (SD). The frequencies of the alleles and genotypes among the case patients and controls were counted and were compared by the chi-square test with the values ( $\chi^2_{HW} = \sum(O-E)^2/E$ , one degree of freedom). Odds Ratios (OR) was calculated as a measure of the association of the ACE genotype with the phenotypes of AMI and Hypertension. Multivariable logistic curve regression analyses were used to evaluate the risk to develop AMI under various conditions: genotype, age, gender, smoking and presence of hypertension and diabetes mellitus. The regression coefficients that were obtained represent the probability to suffer the disease as a consequence of the presence of the D allele and the others variables studied. Statistically significance was set up at a p value ≤ 0.05.

## Results

### General characteristics

The general characteristics of the AMI patients and the control groups are shown in Table 1. The AMI group has the highest mean age (57.87± 11.85) and the highest percentages of males, smokers, subjects with hypertension and diabetes mellitus (75, 68, 74 and 32%, respectively).

### Determination of the ACE gene I/D polymorphism

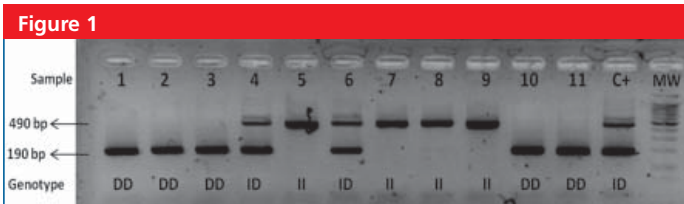
First we determined the principle of Hardy-Weinberg equilibrium in the control group, in order to determine which frequencies should be observed in the population for each genotype as a function of allele frequencies. In this sense, the  $\chi^2$  calculated was 1.45, so there is a probability between 20 and 25% of the differences between observed and expected are randomly, so it is accepted that this population is consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium.

**Table 1. Some basal characteristics for the study population**

Characteristic	AMI Patients (n= 200)	Controls (n= 200)
Mean age ± SD	57.87 ± 11.85	38.34 ± 15.06
Male sex (%)	75.43	38.81
Female sex (%)	24.57	61.19
Smokers (%)	67.53	21.30
Hypertension (%)	74.07	16.41
Diabetes mellitus (%)	31.54	1.82

Abbreviations: SD: Standard Deviation; AMI: Acute Myocardial Infarction

The I/D genotypes were determined by PCR as described in materials and methods. The products were separated by agarose gel electrophoresis and the presence of the insertion allele (I) was detected as a 490 bp DNA fragment, and the deletion allele (D) as a 190 pb DNA fragment (Figure 1). In heterozygous genotypes (ID) both products were present (Figure 1: Samples 4,6), while the product corresponding to the mutant homozygous genotype<sup>24</sup> was detected and confirmed by the unique presence of the band of 190 bp (Figure 1: Samples 1-3, 10-11).



Agarose gel electrophoresis for detection of ACE I/D polymorphism by PCR. Samples: 7-9, insertion homozygous genotype (II); samples 1-3 and 10-11, deletion homozygous genotype<sup>24</sup>; samples 4 and 6 heterozygous genotype (ID); C+, positive heterozygous control and 100 bp molecular weight marker (MW).

The distribution of genotypes and allelic frequencies of the ACE I/D polymorphism in both groups are shown in Table 2. It was determined that the frequency for the heterozygous (ID) was 52.50% (AMI group) vs 44.50% (control group) and 26.50% vs 36.00% for homozygous individuals for the deletion (DD)<sup>24</sup>, respectively. Furthermore, the deletion allelic frequency was very similar for both populations with values of 0.535 for the AMI patients compared to 0.583 for the controls individuals (Table 2).

**Table 2. Some basal characteristics for the study population**

Characteristic	AMI Patients (n= 200)	Controls (n= 200)
Mean age ± SD	57.87 ± 11.85	38.34 ± 15.06
Male sex (%)	75.43	38.81
Female sex (%)	24.57	61.19
Smokers (%)	67.53	21.30
Hypertension (%)	74.07	16.41
Diabetes mellitus (%)	31.54	1.82

Abbreviations: SD: Standard Deviation; AMI: Acute Myocardial Infarction

The Odds Ratio (OR) for AMI in carriers for the deletion or risk allele D (ID and DD genotypes) was 0.91 (95% CI: 0.54-1.53, p>0.05) (Table 2). Thus, the risk allele (D) presence was not significantly associated with an increased risk to this pathology when comparing the two populations (AMI vs controls). In contrast, when we subdivided the population between hypertensive and non-hypertensive individuals in each group (AMI and controls), we

found a 1.06 fold increased risk for hypertension in control subjects carrying the D allele although not statistically significant (OR=1.06, 95% CI: 0.43-2.67, p>0.05), and a 2.66 fold increased risk statistically significant between individuals belonging to the AMI group (OR= 2.66, 95% CI: 1.33-5.31, p<0.05) (Table 2).

**ACE gene I/D polymorphism and angiotensin II**

A subset of 82 samples underwent the determination of angiotensin II levels (pg/ml) in order to determine the existence of any possible association of the D allele and increased levels of this biochemical parameter. In this regard, we observed that carriers of the D allele showed higher levels of angiotensin II compared with the insertion homozygous individuals II (6.59±2.93 pg/ml DD genotype; 5.68±1.72 pg/ml ID genotype vs 4.26±1.40 pg/ml II genotype), corresponding to a statistically significant difference in angiotensin II levels between individuals with DD and II genotypes (p<0.05).

**Interaction of other risk factors and AMI**

Multivariable logistic regression analysis was performed to determine the effect of conventional risk factors and the I/D genotype on AMI (Table 3). We found a positive correlation between AMI and the following variables: age, male gender, presence of hypertension and smoking (p<0.001) (Table 3). Particularly we found an 8.46 fold increased risk for AMI in hypertensive individuals (OR= 8.46, 95% CI: 5.24-1368; p<0.05). However, in our study the presence of the D allele did not increase the risk of AMI.

**Table 3. Multivariable logistic regression analyses of AMI risk factors**

Variable	B	SE	z value	p value
(Intercept)	-6.04119	0.98846	-6.112	9.85e-10 ***
Age	0.06869	0.01879	3.655	0.000257 ***
Male sex	1.73522	0.45171	3.841	0.000122 ***
Hypertension	1.92749	0.49835	3.868	0.000110 ***
Smoking habit	1.99067	0.45473	4.378	1.20e-05 ***

Significance codes: \*p≤0.05; \*\*p≤0.01; \*\*\*p≤0.001

Abbreviations: B: indicates estimated coefficient; SE: Standard Error

**Discussion**

Coronary artery disease (CAD) is the main cause of death in industrialized countries. In Venezuela specifically these diseases cause the 20.18% of all deaths and the AMI represent the most common cause (12.87%)<sup>31</sup>. The AMI, a clinical manifestation of CAD, is caused by atherosclerosis, a degenerative disease condition affecting the arterial vessel walls. Has been suggested that AMI have a multifactorial genetic basis involving a number of genes and environmental factors that interact to determine whether a person will develop the disease. Among these, ACE gene polymorphism (DD genotype) has been proposed as an AMI genetic risk



factor. The first report in this regard was made by Cambien et al.,<sup>32</sup> in a retrospective, multicenter, case-control study, which found that the frequency of the DD genotype was increased in subjects with myocardial infarction recruited between 3 and 9 months after the event. Since then, studies both supporting the finding as well as those questioning the veracity of the association have been published<sup>8,10,30,33-41</sup>, leading to an uncertain picture at present about the importance of the polymorphism.

In the current study we assessed the relation between ACE gene I/D polymorphism and the development of AMI, and indeed found not association between the risk allele (D) presence with an increased risk to this pathology. However, we found a positive correlation between hypertension and AMI (Table 3) and 8.46 fold increased risk for AMI in hypertensive individuals (OR= 8.46, 95% CI: 5.24-13.68;  $p < 0.05$ ). This association is stronger than those found in INHEART study<sup>42,43</sup>. The data obtained only from Latin America countries, showed the hypertension as the risk factor most strongly associated with AMI (OR= 2.81, 99% CI: 2.39-2.68)<sup>42</sup>. In the same way, the data obtained from 52 countries (representing every inhabited continent) also showed an association between hypertension and AMI (OR= 2.48, 99% CI: 2.30-2.68)<sup>43</sup>. Because of the association with AMI, hypertension is an important public-health challenge worldwide. In fact, an interesting study published by Kearney et al.,<sup>44</sup> reported that more than a quarter of the world's adult population totaling nearly one billion had hypertension in 2000, and that this proportion will increase to 29% (1.56 billion) by 2025.

Multiple genetic causes had been associated with hypertension, such as the presence of D allele for the ACE gene I/D polymorphism. Several studies have indicated a positive association between the risk allele (D) and hypertension<sup>14-19</sup>. These findings are in agreements with our results, particularly between hypertensive individuals belonging to the AMI group, where we found an increased risk of hypertension in presence of D allele (OR: 2.66;  $p < 0.05$ ).

The polymorphism ACE I/D is strongly associated with the level of circulating ACE. The DD genotype is associated with higher levels of circulating enzyme than the ID and II genotypes<sup>7,32,45</sup>. In our study, we found that homozygous individuals of the D allele showed higher levels of angiotensin II compared with the insertion homozygous individuals II ( $6,59 \pm 2,93$  pg/ml DD vs  $4,26 \pm 1,40$  pg/ml II genotype;  $p < 0,05$ ) respectively; which could be associated with an increased activity of ACE.

In conclusion, our results do not support the postulated role of the ACE genotype as a marker for AMI; however we found that hypertension is strongly associated with this pathology and showed an increased risk statistically significant between hypertensive individuals carrying the D allele belonging to the AMI group (Table 2). The presence of the D risk allele for the ACE gene I/D polymorphism could be associated indirectly with the development of AMI. The lack of association between D risk allele and the AMI could be due to the well known multifactorial nature of this pathology. The finding in this study that the

D allele risk presence was associated with hypertension, support the importance of detecting this polymorphism in the molecular diagnostic tests for genetic risk estimation associated with hypertension and indirectly with AMI.

### Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge to Dr. Tanit Huerfano and Dr. Ender Gómez for the sample collection and data compilation processes.

This study was supported by grants from FONACIT (N° G-2005000398) and from the LOCTI (N° 6365-09).

## Referencias

- Demirel S, Akkaya V, Cine N, Oflaz H, Yekeler E, Ozturk S, Cleophas TJ Fici F. Genetic polymorphisms and endothelial dysfunction in patients with essential hypertension: a cross-sectional case-control study. *Netherlands Heart Journal*. 2005; 13: 126-31.
- Esther CR, Marino EM, Howard TE, Machaud A, Corvol P, Capecchi MR Bernstein KE. The critical role of tissue angiotensin-converting enzyme as revealed by gene targeting in mice. *J Clin Invest*. 1997; 99: 2375-85.
- Anderson TJ, Elstein E, Haber H Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study). *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 60-6.
- Erdos EG Skidgel RA. The angiotensin I-converting enzyme. *Lab Invest*. 1987; 56: 345-8.
- Dzau VJ. Cell biology and genetics of angiotensin in cardiovascular disease. *J Hypertens Suppl*. 1994; 12: S3-S10.
- Mattei MG, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Roeckel N, Corvol P Soubrier F. Angiotensin I-converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet. Cell Gene*. 1989; 51: 1041.
- Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*. 1990; 86: 1343-6.
- Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 484-92.
- Rigat B, Hubert C, Corvol P Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res*. 1992; 20: 1433.
- Ludwig E, Corneli PS, Anderson JL, Marshall HW, Lalouel JM Ward RH. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction but not with development of coronary stenosis. *Circulation*. 1995; 91: 2120-4.
- Acartürk E, Attila G, Bozkurt A, Akpınar O, Matyar S Seydaoglu G. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in coronary artery disease in southern Turkey. *J Biochem Mol Biol*. 2005; 38: 486-90.
- Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, Lorell BH Riegger GA. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med*. 1994; 330: 1634-8.
- Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW, Abraham WT, Lowes BD, Zisman LS, Taft CS Perryman MB. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet*. 1993; 342: 1073-5.

14. Duru K, Farrow S, Wang JM, Lockette W Kurtz T. Frequency of a deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is increased in African-Americans with hypertension. *Am J Hypertens.* 1994; 7: 759-62.
15. Barley J, Blackwood A, Miller M, Markandu ND, Carter ND, Jeffery S, Cappuccio FP, MacGregor GA Sagnella GA. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism, blood pressure and the renin-angiotensin system in Caucasian and Afro-Caribbean peoples. *J Hum Hypertens.* 1996; 10: 31-5.
16. Jeng JR, Harn HJ, Jeng CY, Yueh KC Shieh SM. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism in Chinese patients with hypertension. *Am J Hypertens.* 1997; 10: 558-61.
17. Kario K, Hoshida S, Umeda Y, Sato Y, Ikeda U, Nishiuma S, Matsuo M Shimada K. Angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme genotypes, and day and night blood pressures in elderly Japanese hypertensives. *Hypertens Res.* 1999; 22: 95-103.
18. Giner V, Poch E, Bragulat E, Oriola J, Gonzalez D, Coca A De La Sierra A. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension.* 2000; 35: 512-7.
19. Agachan B, Isbir T, Yilmaz H Akoglu E. Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen T174M-M235T and angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphisms in Turkish hypertensive patients. *Exp Mol Med.* 2003; 35: 545-9.
20. Higashimori K, Zhao Y, Higaki J, Kamitani A, Katsuya T, Nakura J, Miki T, Mikami H Ogihara T. Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993; 191: 399-404.
21. Schmidt S, van Hooff IM, Grobbee DE, Ganten D Ritz E. Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure: Dutch Hypertension and Offspring Study. *J Hypertens.* 1993; 11: 345-8.
22. Vassilikioti S, Doumas M, Douma S, Petidis K, Karagiannis A, Balaska K, Vyzantiadis A Zamboulis C. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism is not related to essential hypertension in a Greek population. *Am J Hypertens.* 1996; 9: 700-2.
23. Chiang FT, Lai ZP, Chern TH, Tseng CD, Hsu KL, Lo HM Tseng YZ. Lack of association of the angiotensin converting enzyme polymorphism with essential hypertension in a Chinese population. *Am J Hypertens.* 1997; 10: 197-201.
24. Castellano M, Glorioso N, Cusi D, Sarzani R, Fabris B, Opocher G, Zoccali C, Golin R, Veglio F, Volpe M, Mantero F, Fallo F, Rossi GP, Barlassina C, Tizzoni L, Filigheddu F, Giacche M Rossi F. Genetic polymorphism of the renin-angiotensin-aldosterone system and arterial hypertension in the Italian population: the GENIPER Project. *J Hypertens.* 2003; 21: 1853-60.
25. Sagnella GA, Rothwell MJ, Onipinla AK, Wicks PD, Cook DG Cappuccio FP. A population study of ethnic variations in the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism: relationships with gender, hypertension and impaired glucose metabolism. *J Hypertens.* 1999; 17: 657-64.
26. Hernandez-Hernandez R, Silva H, Velasco M, Pellegrini F, Macchia A, Escobedo J, Vinuesa R, Schargrodsky H, Champagne B, Pramparo P Wilson E. Hypertension in seven Latin American cities: the Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America (CARMELA) study. *J Hypertens.* 2010; 28: 24-34.
27. Chobanian A, Bakris G, Black H, Cushman W, Green L, Izzo J, Jones D, Materson B, Oparil S, Wright J, Rocella E and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* 2003;42:1206-1252.
28. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2010;33(sup 1):62-69.
29. Bowen DJ Keeney S. Unleashing the long-distance PCR for detection of the intron 22 inversion of the factor VIII gene in severe haemophilia A. *Thromb Haemost.* 2003; 89: 201-2.
30. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, Buring J Hennekens CH. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 1995; 332: 706-11.
31. Ministerio Popular para la Salud. Anuario de Mortalidad 2007. Available at [http://www.mpps.gob.ve/direcciones\\_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm](http://www.mpps.gob.ve/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm) (last accessed on 10 August 2010)
32. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature.* 1992; 359: 641-4.
33. Bohn M, Berge KE, Bakken A, Erikssen J Berg K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and parental history of myocardial infarction. *Clin Genet.* 1993; 44: 298-301.
34. Tiret L, Kee F, Poirier O, Nicaud V, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Amouyel P et al. Deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parental history of myocardial infarction. *Lancet.* 1993; 341: 991-2.
35. Evans AE, Poirier O, Kee F, Lecerf L, McCrum E, Falconer T, Crane J, O'Rourke DF Cambien F. Polymorphisms of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med.* 1994; 87: 211-4.
36. Leatham E, Barley J, Redwood S, Hussein W, Carter N, Jeffery S, Bath PM Camm A. Angiotensin-1 converting enzyme (ACE) polymorphism in patients presenting with myocardial infarction or unstable angina. *J Hum Hypertens.* 1994; 8: 635-8.
37. Friedl W, Krempler F, Paulweber B, Pichler M Sandhofer F. A deletion polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene is not associated with coronary heart disease in an Austrian population. *Atherosclerosis.* 1995; 112: 137-43.
38. Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation.* 1996; 94: 708-12.
39. Staessen JA, Wang JG, Ginocchio G, Petrov V, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R Fagard R. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens.* 1997; 15: 1579-92.
40. Keavney B, McKenzie C, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, Delapine M, Lathrop M, Peto R Collins R. Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators. *Lancet.* 2000; 355: 434-42.
41. Zintzaras E, Raman G, Kitsios G Lau J. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphic variant as a marker of coronary artery disease: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2008; 168: 1077-89.
42. Lanas F, Avezum A, Bautista LE, Diaz R, Luna M, Islam S Yusuf S. Risk factors for acute myocardial infarction in Latin America: the INTERHEART Latin American study. *Circulation.* 2007; 115: 1067-74.
43. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J Lisheng L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet.* 2004; 364: 937-52.
44. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005; 365: 217-23.

# Efecto de la metformina sobre la función endotelial en pacientes con síndrome metabólico y pre-hipertensión

## Effect of metformin on the endothelial function in patients with metabolic syndrome and prehypertension

58

Emma A. Armanie Cabral\*, Beatriz A. Sosa-Canache\*\*, Nicola Virgilio\*\*\*, Amanda C. Duin Balza\*\*, Beatriz Pacheco\*\*, Rafael Hernández-Hernández\*\*

\*Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario "Antonio María Pineda", Barquisimeto, Venezuela; \*\* Consulta de Hipertensión y Factores de Riesgo Cardiovascular, Unidad de Farmacología Clínica, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela. \*\*\*Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Funcionales, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela.

Autor para correspondencia: Beatriz A. Sosa-Canache:

Consulta de Hipertensión y Factores de Riesgo Cardiovascular, Unidad de Farmacología Clínica, Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela, Teléfono: +58-251-259 1838, correo electrónico: beatrizsosa@ucla.edu.ve.

Este trabajo fue subvencionado por el Centro Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico, CDCHT, de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", por fondos provenientes del proyecto 014-ME-2005. Barquisimeto, Venezuela.

Recibido: 31/05/2010

Aceptado: 18/09/2010

### Resumen

**E**l Síndrome Metabólico es una entidad compleja conformada por un conjunto de factores de riesgo de origen metabólico que tienden a presentarse juntos, vinculados a disfunción endotelial y estrés oxidativo y, es un factor de riesgo de enfermedad aterosclerótica. En el marco de este estudio se planteó como objetivo determinar el efecto de la Metformina sobre los niveles séricos y urinarios de óxido nítrico, del activador del plasminógeno tisular (tPA), del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) y, sobre los niveles séricos de malondialdehído en pacientes con Síndrome Metabólico, con glicemias alteradas en ayuna, prehipertensos. La población estuvo conformada por 15 pacientes que acudieron a la Consulta Externa de Medicina Interna del Hospital Central Universitario "Antonio María Pineda", Barquisimeto-Lara. Se encontró que hubo una disminución significativa de los niveles de peso, índice de masa corporal, circunferencia abdominal y glicemia basal, un aumento significativo en los niveles séricos y urinarios de óxido nítrico, y una disminución del PAI-1. Estos resultados podrían sugerir que la metformina es capaz de mejorar la función endotelial en pacientes con Síndrome Metabólico.

**Palabras claves:** Síndrome Metabólico, Metformina, Óxido Nítrico.

### Abstract

**T**he metabolic syndrome is a complex entity constituted by a set of risk factors of metabolic origin that tend to occur together. They are related to endothelial dysfunction and oxidative stress and, also related to atherosclerotic disease. The aim of this study was to determine the effects of metformin on the serum and urinary levels of nitric oxide, tissue-type plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and on the serum malondialdehyde levels in patients with the metabolic syndrome, with altered fasting glucose serum levels. The sample included 15 patients that visited the outpatient internal medicine clinic at the University Hospital "Antonio María Pineda", in Barquisimeto, Venezuela. The study showed a significant decrease in the levels of weigh, mass body index, abdominal circumference and basal glucose levels; also, a significant increase in nitric oxide serum and urinary levels, and reduction of PAI-1. These results suggest metformin was able to improve the endothelial function in patients with metabolic syndrome.

**E**l síndrome metabólico (SM) es una entidad clínica compleja conformado por un conjunto de alteraciones metabólicas y cardiovasculares que tienden a presentarse juntos, vinculados a disfunción endotelial y estrés oxidativo, y su presentación es un factor de riesgo de enfermedad aterosclerótica. Entre los cambios metabólicos destacan la intolerancia a la glucosa y una dislipidemia caracterizada por hipertrigliceridemia y niveles bajos de colesterol-HDL.

El incremento de los casos de SM es una de las causas de la creciente epidemia mundial de diabetes mellitus tipo 2 y de enfermedades cardiovasculares. Según datos de la Federación Internacional de Diabetes (FID) las personas con SM tienen una probabilidad tres veces mayor de sufrir un síndrome coronario agudo o una enfermedad cerebrovascular y, una probabilidad dos veces superior de morir por esas causas que las personas que no lo padecen<sup>1,2,3</sup>. El SM lo presentan entre el 20-25% de la población mundial<sup>4</sup>; recientemente, ha sido reportada la prevalencia de SM en Venezuela y México, en la población de 25 a 64 años, de 25,8% y 27,2%, respectivamente<sup>5</sup>.

La disfunción endotelial es un importante componente fisiopatológico del SM y de la resistencia a la insulina. En estudios realizados in vitro se determinó la presencia de vasodilatación inadecuada y/o vasoconstricción paradójica en arterias coronarias y periféricas en respuesta a estímulos que producen la liberación de óxido nítrico (ON). La deficiencia de ON puede deberse a una disminución en la síntesis y/o liberación, combinado con una mayor degradación debido a los altos niveles de especies reactivas de oxígeno, las cuales se producen por las alteraciones celulares en el metabolismo de los lípidos y la glucosa<sup>6,7</sup>.

Las células endoteliales liberan varias sustancias que modulan el tono vascular; tales como, el óxido nítrico (ON), las prostaglandinas, el factor hiperpolarizante, las endotelinas y las sustancias reactivas de oxígeno. Aunque las mismas trabajan en concierto para regular el estado contráctil de todos los vasos sanguíneos, el ON juega un papel predominante en los vasos de gran calibre, mientras que el factor hiperpolarizante contribuye en mayor extensión a los vasos de resistencia. Numerosos receptores existen para agonistas paracrinos y endocrinos en la superficie de las células endoteliales, y cuando los mismos son activados por sus respectivos ligandos estimulan la liberación de vasodilatadores derivados del endotelio. En un endotelio sano la vasodilatación dependiente del endotelio predomina; sin embargo, cuando el endotelio está ausente o enfermo (disfunción endotelial) predomina la vasoconstricción<sup>8</sup>.

El SM se asocia con cambios en la proliferación de las células de la musculatura lisa y disfunción endotelial. Algunos estudios han señalado que la hiperinsulinemia anula la vasodilatación dependiente del endotelio en las grandes

arterias, probablemente por el incremento del estrés oxidativo. Estos datos pueden aportar una nueva base fisiopatológica al enlace entre hiperinsulinemia / resistencia a la insulina y aterosclerosis en los seres humanos<sup>9</sup>.

Varios estudios han puesto de manifiesto que la vasodilatación dependiente del endotelio es anormal en los pacientes portadores de los factores de riesgo que componen el SM. Esta anomalía en la vasodilatación dependiente del endotelio podría ser consecuencia de un descenso del ON, lo cual a su vez se ha relacionado con el aumento del estrés oxidativo y con la resistencia a la insulina.

En el presente estudio se evaluó el efecto producido por un sensibilizador de la insulina como lo es la metformina, sobre la concentración de ON, el activador del plasminógeno tisular (tPA), el inhibidor del plasminógeno tisular tipo 1 (PAI-1) y, del malondialdehído; como marcadores que reflejan el estado de la función endotelial, en pacientes con Síndrome Metabólico.

**S**e trató de una investigación experimental tipo ensayo clínico, cerrado, no controlado. Además, fue un estudio simple ciego, en el sentido de que el investigador que procesó las muestras de suero y orina desconocía el tratamiento que estaban recibiendo los pacientes. Asimismo, participó un médico observador ciego, quien se encargó de tomar la presión arterial y medir la circunferencia abdominal basal y al mes y medio del cumplimiento del tratamiento. La muestra la conformaron 15 pacientes provenientes de la Consulta Externa de Medicina Interna, Hospital Central Universitario "Antonio María Pineda" Barquisimeto, estado Lara.

El diagnóstico de SM se realizó siguiendo los parámetros propuestos por la Federación Internacional de Diabetes, además se incluyeron solo pacientes que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: triglicéridos > de 150 mg/dL, HDL < de 50 mg/dL en la mujer y < de 40 mg/dL en el hombre, glicemia en ayuna (entre 100 mg/dL y 125 mg/dL), circunferencia abdominal > de 80 cm en la mujer y > de 90 cm el hombre (parámetros propuesto por la FID), además, que sus cifras de presión arterial sistólicas entre 120 y 139 mmHg y/o diastólicas entre 80 y 89 mmHg (clasificados como pre-hipertensos de acuerdo al Séptimo Informe JNC 2003)<sup>10</sup> y, que firmaron el consentimiento escrito. Los criterios de exclusión fueron: presión arterial sistólica mayor o igual de 140 mmHg, presión arterial diastólica mayor o igual de 90 mmHg, colesterol total mayor de 240 mg/dL, triglicéridos mayor de 250 mg/dL, alteraciones renales o hepáticas. El daño renal se descartó por un nivel de creatinina sérica mayor de 1,3 mg/dL. Igualmente, se excluyeron los pacientes con niveles de transaminasas tres veces por encima del valor normal, embarazo o riesgo del mismo y lactancia, hipertensión arterial secundaria, trastornos mentales, historia de abuso de drogas, intolerancia conocida a los sensibilizadores

de la insulina (Biguanidas) y finalmente, pacientes que estuvieran recibiendo fármacos que pudieran ocasionar aumento de nitratos o nitritos y/o efecto antioxidante (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de angiotensina II, estatinas, betabloqueante, inhibidores de la fosfodiesterasa).

Se formó un grupo experimental de 15 pacientes con SM, los mismos fueron evaluados por un médico observador quien se encargó de realizar la historia clínica completa, verificar los criterios para síndrome metabólico y planificar el día para la recolección de orina de 24 horas y la toma de muestra de sangre para la determinación del malondialdehído, de los nitritos y nitratos (medición indirecta del ON, por ser éstos los metabolitos estables del ON), del activador del plasminógeno tisular (tPA) y el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) y para los exámenes paraclínicos. Estas determinaciones constituyeron los valores pretratamiento. Seguidamente, se les indicó la metformina 500 mg antes del desayuno y de la cena durante seis semanas y, no se hicieron recomendaciones dietéticas en particular y el paciente debió continuar con su dieta habitual. Los pacientes fueron evaluados cada 15 días para verificar el cumplimiento del tratamiento y una evaluación de su estado físico general. Finalmente, los pacientes fueron evaluados por el médico observador, una vez cumplidas las seis semanas del tratamiento, y les solicitaron las determinaciones en sangre. Estas últimas mediciones constituyeron los valores post tratamiento.

Para la determinación del óxido nítrico (ON) se usó un kit colorimétrico no enzimático de ON (Oxford Biomedical Research, Oxford MI 48371, USA). Se tomaron muestras de suero y orina. La orina la coleccionó el paciente a partir del día anterior de la visita (8:00 a.m.) y se alícuotizó al momento de recibirla. Para evitar la interferencia de nitratos y nitritos exógenos se les indicó a los pacientes no consumir alimentos que contengan nitratos o nitritos durante las 72 hora previas a la recolección de las muestras. Para la determinación de malondialdehído (MDA) se empleó el método de Naito et al, 1993<sup>11</sup>. Para la medición del Activador del Plasminógeno tisular (tPA) y del Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1 (PAI-1) se emplearon kits comerciales (ELITEST-tPA, ELITEST-PAI, HYPHEN BioMed, FRANCIA). La significancia estadística fue determinada usando la prueba "t" de Student para datos pareados. Se consideraron significativos los valores de p menores de 0,05 (p<0,05), para dos colas.

**E**n total se evaluaron 15 individuos con criterios de SM según la FID, que tenían glicemias alteradas en ayuna, normo o pre hipertensos; cuyas edades estaban comprendidas entre  $50,8 \pm 2,47$  años; (5 hombres y 10 mujeres); con un índice de masa corporal (I.M.C.) promedio de  $30,51 \pm 2,84$  kg/m<sup>2</sup>. Se presentan las mediciones de los diferentes parámetros antes y después del tratamiento con metformina. El número de pacientes que iniciaron el estudio fue de 33 en total, pero

2 fueron retirados por efectos adversos (diarrea, reacción adversa medicamentosa más frecuente descrita para la metformina), 8 ameritaron terapias no permitida (según criterios de exclusión) y finalmente, 8 no continuaron por causas ajenas al estudio. Por lo tanto, el porcentaje de abandono fue del 24,24%.

### Efecto sobre el Perfil Metabólico:

En la **tabla 1** se presentan los resultados de los exámenes paraclínicos tales como colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos, creatinina y glicemia en ayunas. En estas mediciones no hubo diferencias significativas al comparar el antes y después del tratamiento con metformina, con la excepción de un descenso significativo de la glicemia basal después de 6 semanas de tratamiento (p = 0,03). En el resto de los exámenes paraclínicos de rutina realizados a los pacientes como hematología completa, electrolitos (Na+ y K+), transaminasas y uroanálisis, no hubo alteraciones.

**Tabla 1. Exámenes Paraclínicos de Pacientes con Síndrome Metabólico Antes y Después del Tratamiento con Metformina**

	Pre Tratamiento	Post Tratamiento	Valor de p
Glicemia (mg/dL)	114,23 ± 5,51	103,22 ± 3,03	p=0,05
Colesterol Total(mg/dL)	181,71 ± 9,85	180,84 ± 6,82	p=0,77
Colesterol HDL (mg/dL)	41,82 ± 3,01	42,98 ± 2,38	p=0,37
Colesterol LDL (mg/dL)	111,50 ± 7,27	109,51 ± 7,01	p=0,83
Triglicéridos (mg/dL)	140,89 ± 14,89	145,75 ± 14,07	p=0,81
Creatinina (mg/dL)	1,04 ± 0,028	1,09 ± 0,034	p=0,18

Criterios para SM: circunferencia abdominal más dos (2) de los otros criterios

### Efecto sobre la Presión Arterial y Parámetros Físicos:

Por otra parte, en la **tabla 2** se presentan los niveles de presión arterial sistólica, diastólica y media de los pacientes con síndrome metabólico, con el fin de evidenciar que los pacientes antes y después del tratamiento con metformina tenían niveles de presión arterial en posición tanto supina como sentada, que les clasificaba como pre hipertensos según el Séptimo Informe JNC<sup>10</sup>.

**Tabla 2. Niveles de Presión Arterial Sistémica de Pacientes con Síndrome Metabólico Antes y Después del Tratamiento con Metformina**

	Pretratamiento	Postratamiento	Valor p
<b>Niveles de presión arterial (mmHg)</b>			
<b>Sistólica (a)</b>	133,40 ± 2,89	128,07 ± 2,81	P= 0,16
<b>Diastólica (a)</b>	85,40 ± 1,96	84,33 ± 1,07	P= 0,54
<b>Media (a)</b>	101,40 ± 2,16	103,76 ± 3,73	P= 0,61
<b>Sistólica (s)</b>	130,93 ± 2,67	127,07 ± 3,44	P= 0,35
<b>Diastólica (s)</b>	86,73 ± 1,86	83,40 ± 1,52	P= 0,06
<b>Media (s)</b>	101,47 ± 1,92	97,96 ± 1,85	P= 0,13

(a) acostado (s) sentado

En la **tabla 3** se muestran el peso, el I.M.C. y la circunferencia abdominal (CA) de los pacientes antes y después del tratamiento. Se observó que hubo una mejoría estadísticamente significativa en estos tres parámetros, siendo más evidente para la CA la cual de  $105,07 \pm 1,33$  cm pasó a ser de  $100,92 \pm 1,60$  cm.

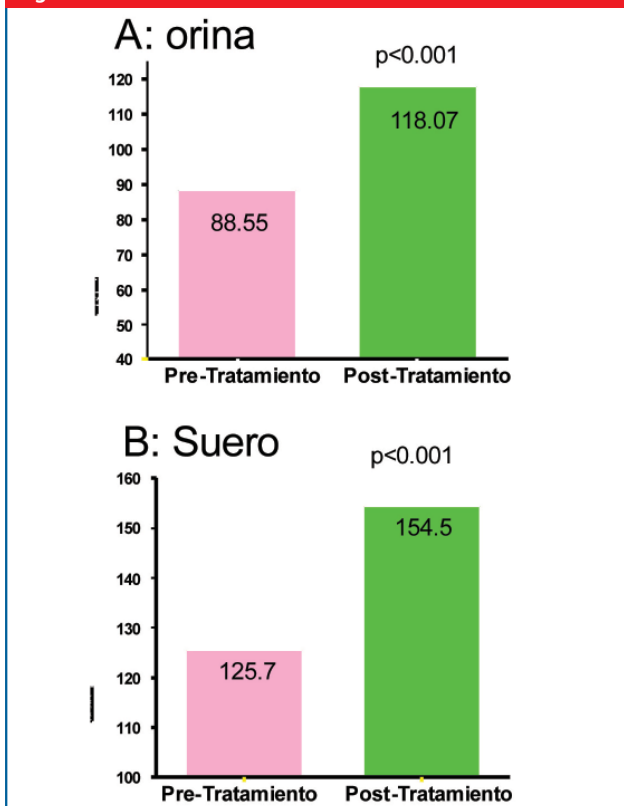
**Tabla 3. Peso, Circunferencia Abdominal e I.M.C. de Pacientes con Síndrome Metabólico Antes y Después del tratamiento con Metformina**

	PRE TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	Valor de p
Peso (Kg)	76,47 ± 2,71	75,21 ± 2,94	P<0,01
I.M.C. (kg/m <sup>2</sup> )	30,55 ± 0,53	29,95 ± 0,58	P<0,01
CA (cm)	105,07 ± 1,33	100,92 ± 1,60	P < 0,01

**Efecto sobre los Parámetros Endoteliales y Vasculares**

En cuanto a los niveles de ON, expresados como el índice de ON (NOx), que es la suma de los nitratos más los nitritos, metabolitos estables del ON, encontramos en el suero de los pacientes antes del tratamiento (niveles basales) 88,55 ± 8,30 µmol/L y en la orina de 24 horas 125,70 ± 14,85 µmol/L; y después del tratamiento (niveles post tratamiento), un NOx de 118,07 ± 9,88 µmol/L y 158,47 ± 15,21 µmol/L en suero y orina, respectivamente (Figura 1). Es decir, hubo un aumento significativo del óxido nítrico en los pacientes después de ser tratados con metformina. Además, se calculó la depuración renal de ON que fue de 1,41 ml/min y 1,14 ml/min antes y después del tratamiento, respectivamente (resultados no graficados), sin cambios estadísticamente significativos (p > 0,05).

**Figura 1**

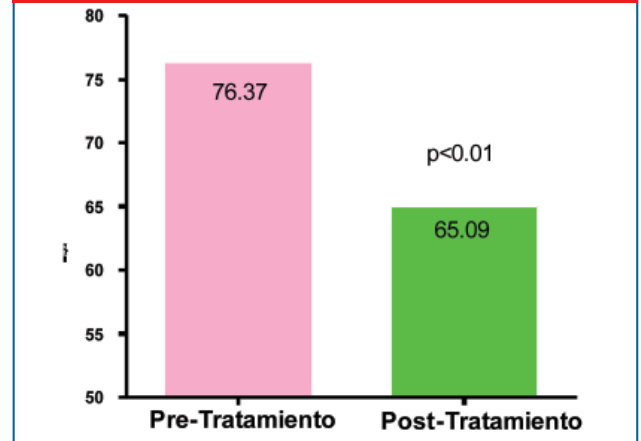


Niveles de Óxido Nítrico en Suero y Orina (NOx) de Pacientes con Síndrome Metabólico Antes y Después de ser tratados con Metformina.

Los niveles de malondialdehído (MDA), del activador del plasminógeno tisular (t-PA) no se modificaron de manera significativa.

En la figura 2 se representan los niveles del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), donde se evidencia una disminución significativa, de 76,37 ± 0,11 ng/ml a 65,09 ± 0,09 ng/ml (p > 0,05).

**Figura 2**



Niveles del Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1 (PAI-1) de Pacientes con Síndrome Metabólico Antes y Después de ser Tratados con Metformina.

**Discusión**

La patogénesis del síndrome metabólico se ha planteado como compleja y todavía hoy existen muchas interrogantes. La obesidad juega un rol preponderante ya que el tejido adiposo, sobre todo el visceral o abdominal, es muy activo en la liberación de distintas sustancias: ácidos grasos, factor de necrosis tumoral alfa, leptina, resistina, el factor inhibidor de la activación del plasminógeno tipo 1 o producido por las células endoteliales (PAI-1), IL6, etc. Estos factores pudieran favorecer la aparición de un estado proinflamatorio, de resistencia a la insulina y/o de daño endotelial.

Por otro lado, la obesidad centroabdominal tiene una estrecha relación con la insulinoresistencia. Los ácidos grasos libres no esterificados que se generan aumentan en plasma y se encuentran con un hígado y un músculo resistentes a la insulina. Esta mayor oferta de ácidos grasos en hígado conduce a: aumento de gluconeogénesis, incremento en la producción de triglicéridos, disminución de HDL, mayor producción de sustancias con actividad protrombótica (Fibrinógeno, PAI-1) y esteatosis hepática no alcohólica por depósito de triglicéridos. En nuestro estudio hubo una disminución del PAI-1 (p<0,05). Este resultado está en consonancia por lo descrito por otros investigadores, la metformina además de reducir la glucosa en plasma por acciones extrahepáticas, se ha comprobado que incrementa la actividad fibrinolítica al inhibir el inhibidor del activador tisular plasminógeno<sup>12</sup>, lo cual contribuye al efecto cardioprotector de este fármaco.

La función endotelial normal depende de la secreción balanceada de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras por parte de las células endoteliales. Por lo tanto, la medición de cualquiera de esas sustancias permite hacer una evaluación de dicha función endotelial. Los factores que conforman el SM (presión arterial elevada, dislipidemia, hiperglicemia) producen disfunción endotelial, la cual

se manifiesta como una disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio. Así, una manera de evaluar el estado funcional del endotelio es mediante la medición del óxido nítrico. La vida media de esta molécula es muy breve, por lo que se hace difícil su medición en los fluidos corporales. Es por ello, que se miden los nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) y nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), los cuales son el producto de la oxidación del ON<sup>13</sup> y son relativamente estables en sangre y orina. La medición de su concentración se emplea como un indicador de la formación endógena de ON por la célula endotelial<sup>14,15</sup>, y se expresa como el índice de ON (NOx) que es la suma de los nitratos más los nitritos.

Los pacientes incluidos tenían la particularidad de que, además de tener el criterio de la cintura abdominal por encima de los valores establecidos, todos los pacientes tenían glicemias alteradas en ayuno, lo que los confinaba a una verdadera condición de pre-diabéticos y justificaba el uso de sensibilizadores de la insulina, como la metformina.

Al igual que los resultados de otros estudios con metformina, encontramos que nuestros pacientes lograron un pequeño descenso significativo de peso y de I.M.C. de  $76,47 \pm 2,71$  a  $75,21 \pm 2,94$  Kg. y de  $30,51 \pm 0,53$  a  $29,96 \pm 0,58$  Kg./m<sup>2</sup> (de peso e índice de masa corporal respectivamente), lo que nos permite confirmar aun por mecanismo no aclarado que la metformina favorece disminución del peso corporal. El porcentaje de pacientes en quienes hubo esta disminución en el peso fue del 80,0% y en el IMC del 73,3%. También, el Diabetes Prevention Research Group, en el 2002<sup>16</sup>, demostró una reducción del 31% en la progresión de intolerancia a la glucosa a diabetes utilizando metformina, pero sólo en pacientes menores de 60 años; por otra parte; en el presente estudio, se evidenció un descenso significativo de la glicemia basal (de  $114,23 \pm 5,51$  a  $102,37 \pm 3,04$  mg/dL  $p=0,03$ ), lo que pudiese traducirse en una disminución del riesgo a desarrollar diabetes mellitus tipo 2.

Es interesante resaltar que los pacientes incluidos en este estudio presentaban cifras de presión arterial que los calificaba como pre-hipertensos (según el Séptimo Informe JNC, 2003). Esto además de ser un criterio de inclusión se hizo con la finalidad de que los pacientes no ameritaran tratamiento con fármacos antihipertensivos que pudieran modificar per sé los niveles de ON y otros de los marcadores medidos. Además, por el hecho de que fueran pre-hipertensos, y no hipertensos, no se podrían atribuir nuestros resultados a una disminución significativa en la presión arterial. Asimismo, algunos estudios con pacientes hipertensos tratados con antagonistas del receptor de la angiotensina, la disminución de la presión arterial aumentó el ON<sup>17,18</sup>.

En este estudio se encontró que los pacientes presentaban niveles de ON séricos y urinarios basales de  $88,55 \pm 8,30$   $\mu\text{mol/L}$  y  $125,70 \pm 14,85$   $\mu\text{mol/L}$  respectivamente; y posterior al tratamiento con metformina a dosis de 500 mg antes del desayuno y de la cena durante 6 semanas; los niveles aumentaron a  $118,07 \pm 9,88$   $\mu\text{mol/L}$  y  $158,47 \pm 15,21$   $\mu\text{mol/L}$  en suero y orina respectivamente,  $p<0,01$ . Esto podría indicar que la metformina mejora la función endotelial, o que, mejorando los niveles de glicemia (aun sin estar éstos en valores considerados para diagnóstico de

diabetes ( $> 125$  mg/dl), aumentan los niveles de ON como una expresión de mejoría de la disfunción endotelial.

Durante los últimos años, se ha logrado un entendimiento sustancial de la vía arginina/SONe/ON y de cómo ésta modula la reactividad vascular. Sin embargo, debido a la complejidad de la química, bioquímica y biología molecular del ON y sus vías de señalización y aunado a las posibles factores implicados en la disfunción endotelial presente en los pacientes con SM, hay varios posibles blancos terapéuticos que podrían ser usados para mejorar la función endotelial y mejorar el pronóstico en esta patología y en otras.

En conclusión, la metformina a la dosis de 500 mg dos veces al día durante seis semanas, produjo una disminución significativa del peso, IMC, CA y glicemia basal en pacientes con síndrome metabólico que tenían glicemias alteradas en ayuna. Igualmente, se observó un aumento significativo en los niveles séricos y urinarios del óxido nítrico y una disminución del PAI-1, lo que sugiere que este fármaco es capaz de mejorar la función endotelial. Es decir, podemos sugerir que el insulinosensibilizador, metformina, es capaz de mejorar la función endotelial a los pacientes con síndrome metabólico.

## Referencias

1. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001; 24(4): 683-689.
2. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37:1595-1607.
3. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. 2003; 2ed. Brussels: IDF; 2003
4. Dunstan DW, Zimmet PZ, Welborn TA, De Courten MP, Cameron AJ, Sicree RA, et al. The rising prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance. *The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study*. *Diabetes Care*. 2002. 25: 829-834.
5. Shargrodsky H., Hernández-Hernández R. et al. CARMELA: Assessment of Cardiovascular Risk in Seven Latin American Cities. *An. J. Med*. 2008; 121: 58-65.
6. Rastaldo R., Pagliaro P., Cappello S., et al. Nitric Oxide and cardiac function. *Minireview. Life Sciences*. 2007; 81; 779-793.
7. Maxwell A. Mechanisms of Dysfunction of Nitric Oxide Pathway in Vascular Diseases. *Review. Nitric Oxide: Biology and Chemistry*. 2002; 6; 2: 101-124.
8. Harrison D, Cai H. Endothelial control of vasomotion and nitric oxide production. *Cardiol Clin*, 2003; 21: 289-302.
9. Arcaro G, Cretti A. Insulin causes endothelial dysfunction in humans: Sites and mechanisms. *Circulation*. 2002; 105:576-582.
10. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *JAMA*. 2003; 289(19): 2560-2572.
11. Naito Chikayuki, Kawamura Mitsunobu, Yamamoto Yorihiro. Lipid Peroxides as the Initiating Factor of Atherosclerosis. *Ann. N. Y. Acad Sci*; 1993. Mar.15; 676: 27-45.
12. Kirpichnikov D, McFarlane S, Sowers JR. Metformine: an update. *Ann Intern Med*. 2002; 137: 25-33.
13. Baylis C, Vallance P. Measurement of nitrite and nitrate levels in plasma and urine-what dose this measure tell us about the activity of the endogenous nitric oxide system? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1998; 7: 59-62.
14. Moshage H, Kok B, Reiter R, et al. Nitrite and nitrate determination in plasma: A critical evaluation. *Clin Chem*. 1995; 41: 892-896.
15. Jungersten L, Edlund A, Petersson AS, Wennmalm A. 1996. Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man: analyses of kinetics and confounding factors. *Clin Physiol*. 1995; 16: 369-370.
16. Diabetes Prevention Research Group: Reduction in the evidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Eng J Med*. 2002; 346: 393-403.
17. Pierdomenico SD, Cipollone F, Lapenna D, et al. Endothelial function in sustained and white coat hipertensión. *Am J Hypertens*. 2002; 15: 946-952.
18. B. Sosa Canache, Armas-Padilla, Armas-Hernández, R. Cammarata, B. Pacheco, J. Guerrero, A.R. Carvajal and Hernández-Hernández. Nitric Oxide and Malondialdehyde levels in healthy Normotensive Subjects and Patients with Hypertension. *Current Advances in Hypertension*. 2004. Monduzzi Editore; 1; 203: 143-206.