

DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES DIABETICOS E HIPERTENSOS

Freddy Contreras¹, Mary Lares², Eleisa Sánchez de Mayorca³, Sinai Fragoza⁴

RESUMEN

La disfunción endotelial (DE) se considera en la actualidad una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y de la arteriosclerosis. Dado que los métodos diagnósticos de DE cada día son más numerosos e imprecisos se plantean la siguiente interrogante: Son útiles las hormonas endoteliales: Endotelina, Oxido nítrico (NO), Leptina, Proteína C Reactiva (PCR) y Moléculas de adhesión endotelial VCAM-1, como indicadores bioquímicos de DE en sujetos sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2. Objetivo: 1-. Comprobar la utilidad de hormonas endoteliales, como indicadores bioquímicos de disfunción endotelial en sujetos sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2. A los efectos, se diseñó una investigación observacional de tipo analítico, correlacional y, transversal. La población objeto del estudio fue de 75 pacientes seleccionados mediante criterios clínicos, los cuales se distribuyeron en 3 grupos de 25 pacientes, a saber: Sanos, diabéticos e hipertensos. A todos los pacientes se les midieron variables hemodinámicas no invasivas, antropométricas y bioquímicas. Resultados: Al contrastar los indicadores endoteliales con presión arterial diastólica sólo VCAM-1, correlacionó de manera inversa y significativa, en el grupo sanos en condiciones basales. La variable hemodinámica no invasiva que mejor correlaciona con hormonas endoteliales es la PAM. El VCAM-1 en pacientes diabéticos tipo 2 posee una excelente Sensibilidad: 92,0 y Especificidad: 96,0. Conclusión: VCAM-1, resultó ser la prueba más sensible y específica para evaluar pacientes diabéticos tipo 2 con DE, asimismo, El VCAM-1 en pacientes hipertensos posee excelente Sensibilidad: 100,0 (IC-95%: 86,3 – 100,0) y Especificidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,9).

Palabras clave: Disfunción endotelial, marcadores de disfunción, VCMA -1, Diabetes e Hipertensión arterial.

ABSTRAC

Endothelial dysfunction (ED) is now considered one of the first manifestations of vascular disease and atherosclerosis. Because of diagnostic methods are increasingly more numerous and imprecise pose the following question: endothelial hormones are useful: Endothelin, nitric oxide

(NO), leptin, C-reactive protein (CRP) and endothelial adhesion molecules VCAM-1 as biochemical indicators of ED in healthy subjects and type 2 diabetic hypertensive. Objective: 1-. Test the usefulness of endothelial hormones as biochemical indicators of endothelial dysfunction in healthy subjects and type 2 diabetic hypertensive. For the purpose, we designed an observational analytic, correlational and cross. The purpose of the study population was 75 patients selected by clinical criteria, which were distributed in 3 groups of 25 patients, including: Healthy, diabetic and hypertensive. All patients underwent noninvasive hemodynamic variables measured, anthropometric and biochemical. Results: When comparing the endothelial indicators with diastolic blood pressure only VCAM-1, correlated inversely and significantly in the healthy group at baseline. The noninvasive hemodynamic variable that best correlates with endothelial hormones is the PAM. The VCAM-1 in type 2 diabetic patients has excellent sensitivity: 92.0, specificity: 96.0. Conclusion: VCAM-1, proved to be the most sensitive and specific test to assess type 2 diabetic patients with ED, also, the VCAM-1 in hypertensive patients has excellent sensitivity: 100.0 and specificity: 92.0

Key words: endothelial dysfunction, markers of dysfunction, VCMA -1, Diabetes and Hypertension.

INTRODUCCIÓN

La disfunción endotelial se considera en la actualidad una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y de la arteriosclerosis. El endotelio, una monocapa de células que recubre la pared luminal de los vasos sanguíneos regula la interacción de las células y las proteínas circulantes con las células residentes en la pared vascular, ejerciendo un papel central como sensor y transmisor de señales. El endotelio protege la pared arterial frente al desarrollo de lesiones y contribuye a la homeostasis vascular a través de ese control continuo de los estímulos que recibe y la adaptación de su estado funcional. Las células endoteliales (CE), mediante un programa de expresión génica y una síntesis y procesamiento de proteínas altamente regulables, son capaces de detectar los cambios tanto físicos (estrés mecánico hemodinámico) como químicos (liberación de moléculas

¹ Editor – Director. Prof. Asociado de Fisiopatología. Facultad de Medicina UCV. MsC en Gerencia Educativa. Médico Internista. sicontreras2009@gmail.com

² Doctora Biología. Prof. Agregado Nutrición-UCV. Lab. Endocrinología Hospital Militar Carlos Arvelo.

³ Médico cardiólogo. CMDLA

⁴ Médico General

en su entorno) y transformarlos en respuestas funcionales adaptativas, esta capacidad de adaptación le confiere un papel clave en la regulación de la homeostasis vascular¹.

El endotelio tiene funciones antitrombóticas (inhibe la adhesión plaquetaria y la coagulación, y regula el sistema fibrinolítico), controla la actividad de las células musculares lisas (CML) de la capa media (tono vascular/proliferación) y modula el tránsito de macromoléculas, como las lipoproteínas, y la adhesión de leucocitos (monocitos/linfocitos T) a la pared arterial. Diversos factores pueden modificar las funciones del endotelio y provocar lo que se conoce como disfunción endotelial.

La disfunción endotelial puede definirse como un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, y que puede facilitar el desarrollo de arteriosclerosis, agregación plaquetaria y trombosis. En las últimas décadas se ha demostrado que factores de riesgo coronario bien conocidos (el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad [cLDL], el tabaquismo, la diabetes, la hipertensión, etc.) y otros factores emergentes (radicales libres de oxígeno, homocisteína, infecciones, déficit estrogénico, etc.) producen disfunción endotelial².

En el estudio WHI (Women's Health Initiative Observational Study) que incluyó a 93.676 mujeres postmenopáusicas (82.069 o sea el 87,6% no presentó historia previa de diabetes) luego de un seguimiento de 5,9 años, se encontró que los niveles de las moléculas de adhesión, entre ellas E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1, se encontraron al inicio significativamente elevadas en aquellas mujeres sanas que posteriormente desarrollaron DM clínica³. La E-selectina y la ICAM-1 estuvieron fuertemente relacionadas con riesgo aumentado de diabetes en los distintos grupos étnicos, independientemente de presencia de obesidad, resistencia a la insulina, e inflamación sistémica. No se establecieron diferencias acerca del riesgo de diabetes de los grupos con ascenso de los marcadores biológicos señalados entre los grupos étnicos. También se observó que la disfunción endotelial en la mujer se asocia fuertemente con la edad y la menopausia. Un elevado nivel de E-selectina puede ser mejor y más precoz marcador de disfunción endotelial que otras moléculas de adhesión³.

Hoy día es ampliamente conocido que la resistencia a la insulina es un importante integrante del Síndrome Metabólico (resistencia a la insulina, hipertensión arterial, obesidad, hipertrigliceridemia, disminución de HDL), ligado a enfermedad coronaria, hipertensión arterial y

aterosclerosis⁴. La insulina, tiene importantes acciones vasculares que llevan a vasodilatación, aumento de flujo sanguíneo y aumento de disponibilidad de glucosa en el músculo esquelético, la mayoría de ellas dependientes del NO. Las interacciones entre insulina y endotelio intervienen muy activamente en la homeostasis cardiovascular. En este sentido, la insulina puede llevar a hipertrofia miocárdica y a un aumento considerable de la masa ventricular izquierda (MVI) a través de distintos caminos, siendo importante el efecto antiproteolítico en el corazón⁵.

En este mismo orden de ideas, en las últimas décadas se han generado diversos estudios para demostrar que la resistencia insulínica y la hiperinsulinemia podrían contribuir a la patogénesis de la hipertensión arterial^{6,7,8 y 9}. De ellos surge que la insulina es capaz de modificar mecanismos fisiológicos que pueden conducir tanto a aumento como a disminución de la presión arterial. Modan y col.⁷ mostraron que pacientes con hipertensión arterial presentaban niveles postprandiales de insulina más elevados que los de pacientes normotensos, independientemente de la obesidad o la intolerancia a la glucosa.

La insulina ejerce un efecto vasodilatador, a través de liberación de NO del endotelio vascular⁹ que induce una relajación del músculo liso de las arteriolas y facilita el reclutamiento de capilares a nivel de músculo estriado para facilitar el suministro de glucosa y de la misma insulina a ese nivel, por otro lado, inhibe la formación de lesiones dependientes de la migración y proliferación de las células del músculo liso vascular; pero también posee efectos deletéreos vasculares, estimulando la actividad de varios factores de crecimiento.

La insulina también estimula la actividad de la bomba de Na⁺ y K⁺ ATPasa en varios tejidos, el aumento de actividad de esta bomba produce relajación del músculo. Sin embargo, la insulina tiene también efectos presores entre otros, aumentando la actividad del sistema nervioso simpático facilitando la reabsorción tubular de sodio ya sea por un efecto directo sobre los túbulos renales, aunque aún es discutido el sitio exacto de acción en el nefrón efecto que se mantiene independientemente de constatarse insulino-resistencia en el metabolismo hidrocárbónico. El efecto antinatriurético puede facilitarse a través de la acción endotelial del sistema de la enzima convertidora de la angiotensina y por liberación de endotelina¹⁰.

En la Hipertensión Arterial la acción de la Angiotensina II y de la ET-1 y de otras sustancias vasoactivas provocan, crecimiento de la pared, alteración de la estructura y disminución de los niveles de ON alterando la relajación

dependiente del endotelio¹¹.

Por otro lado, en los últimos años gracias a los avances tecnológicos se han identificado distintos marcadores imagenológicos de diagnóstico precoz de aterosclerosis subclínica, los de mayor utilidad son la medición del índice tobillo-brazo, la tomografía computarizada para la detección de calcio coronario, la resonancia magnética de alta resolución y la ecografía carotídea tridimensional. Asimismo, se han propuesto una gran variedad de marcadores plasmáticos, fundamentalmente moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina), endotelina, Oxido nítrico, proteína C reactiva (PCR) ultrasensible, inhibidor del activador del plasminógeno tisular, dimetil arginina asimétrica (ADMA), factor de von Willebrand y, más recientemente, células progenitoras endoteliales.

Dado que la relación entre diabetes e hipertensión cada día es más evidente y los métodos diagnósticos de disfunción endotelial cada días son más numerosos e imprecisos se plantean las siguientes interrogantes ¿Cuáles son los efectos de las variables hemodinámicas no invasivas de sujetos sanos, diabéticos tipo 2 e hipertensos sobre la secreción de hormonas endoteliales? Son útiles las hormonas endoteliales: Endotelina, Oxido nítrico (NO), Leptina, Proteína C Reactiva (PCR) y Moléculas de adhesión endotelial VCAM-1, como indicadores bioquímicas de disfunción endotelial en sujetos sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2. Estas interrogantes dieron origen a los objetivos que se señalan a continuación: 1-. Comprobar la utilidad de Endotelina, Oxido nítrico (NO), Leptina, Proteína C Reactiva (PCR) y Moléculas de adhesión endotelial VCAM-1, como indicadores bioquímicas de disfunción endotelial en sujetos sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2 y 2-. Correlacionar indicadores endoteliales con indicadores hemodinámicas no invasivos (PAS, PAD, PAM y FC) en sujetos, sanos, hipertensos y diabéticos tipo 2.

MÉTODOS

Para llegar a cumplir con los objetivos propuestos, se diseñó una Investigación observacional de tipo analítico, correlacional y, transversal. La población objeto del estudio fue seleccionada del universo proveniente de la consulta de Diabetes del Departamento de Medicina Interna del Hospital Victorino Santaella ubicado en Los Teques, Estado Miranda, durante el lapso comprendido entre febrero de 2008 y diciembre de 2009; el muestreo para la presente investigación atendió al tipo no probabilístico intencional, mediante criterios clínicos de selección: de inclusión y criterios de exclusión. De una población total

de 93 pacientes se seleccionó la muestra definitiva, la cual se calculó con la intención de detectar diferencias significativas entre los grupos estudiados, siempre que ésta no excediera al 10%, a su vez, se asumió un nivel de significación de la estimación del 5% y una potencia de estudio superior al 80%. Ello implicó que fuese necesario incluir en el estudio 75 pacientes. 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.

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"), que son los mismos del Comité de 1997¹² 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 aportado por Chobanian et al en 2003¹³. 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 obtenidos el consentimiento informado se pasó a la segunda fase del estudio; en la cual 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 hipoglucemiantes 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 cardiovasculares no invasivas:

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 sin haber fumado ni ingerido café 1 hora previo a la medición de PA, según técnica descrita^{14,15}.

b) Variables bioquímicas: Los análisis bioquímicos

estudiados, producto de la toma de muestras al minuto 0' y 30'.

Insulina por métodos de RIA, Radio Immune Assay¹⁶.

Glucemia: método enzimático colorimétrico, kit comercial de CIENVAR¹⁷; Hemoglobina glicosilada HbA1c: método de resinas de intercambio iónico enzimático colorimétrico^{18, 19}; HOMA_{IR}: calculado según modelo matemático^{20, 21}; Leptina: por método de RIA^{22, 23}. PCR-us: por colorimetría, aplicando el principio inmunológico de aglutinación²⁴; Óxido Nítrico: por colorimetría^{25, 26}; VCAM-1: medido en suero por el método de ensayo enzimático Inmunométrico ELISA^{27, 28}. Endotelinas: fueron medidas por Elisa²⁹.

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. 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 a objeto de obtener datos medición de PA, Pulso, FC, peso, talla, cintura y cadera asistidos técnicamente con equipos de medición previamente calibrados.

Análisis Estadístico

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. 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 $p < 0,01$.

Los valores de utilidad de la PCR, Endotelina, Óxido Nítrico, VCAM-1 y Leptina, se estimaron usando el pro-

cedimiento de la curva ROC con el método de separación según De Long ER, De Long DM & Clarke-Pearson DL, explicado en su publicación "Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a non parametric approach. Biometrics³⁰.

RESULTADOS

A objeto de determinar las características según edad, sexo, HOMA, HbA1c y antropometría del grupo de pacientes Sanos, Diabéticos e Hipertensos, en condiciones basales; como se evidencia en la Tabla 6, se estudiaron 75 pacientes con edades que oscilaban entre 35 y 44 años. Fueron evaluados 39 sujetos de sexo femenino y 36 de sexo masculino. El IMC en la población estudiada fluctuó entre 25,48 y 27,84 Kg/m². La Hemoglobina glicosilada A1c varió entre 6,42 y 8,49% en el grupo general. Asimismo, el índice cintura cadera varió entre 1,00 y 0,95 en la población estudiada. Se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la edad, HOMA, HbA1c e IMC.

Tabla 1. Características de la muestra según grupos estudiados.

Variables	Grupos			p	Diferencias entre grupos
	Sanos (1)	Diabéticos (2)	Hipertensos (3)		
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	<u>ns</u>	-
Sexo				<u>ns</u>	
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.

Fuente: Fuente: Historia clínica. Datos del investigador

La Tabla 2, muestran los resultados inherentes a las variables hemodinámicas no invasivas (PAS, PAD y PAM) en sujetos hipertensos y diabéticos tipo 2.

Tabla No. 2 Variables hemodinámicas: PAS-PAD y PAM
Diferencias de los valores según grupos.

Grupos	Seguimiento						p
	PAS		PAD		PAM		
	0'	30'	0'	30'	0'	30'	
SANOS	117 ± 10	118 ± 11	72 ± 9	73 ± 8	90 ± 8	88 ± 18	0,05
DIABÉTICOS	130 ± 14	130 ± 14	81 ± 9	80 ± 9	99 ± 11	98 ± 9	0,05
HIPERTENSOS	145 ± 14	150 ± 18	89 ± 10	92 ± 9	107 ± 9	110 ± 8	0,05

(*) Valores expresados como media ± desviación estándar
Fuente: Historia clínica. Datos del investigador.

Tabla 3. Coeficientes de Correlación Lineal de Pearson de la PAS y las Variables Endoteliales.

Grupos	Seguimiento	
	0 min	30 min
Sanos		
PCR	0,057	-0,313
Endotelina	0,354	0,158
Oxido nítrico	-0,115	-0,080
VCAM-1	0,341	-0,368
Leptina	-0,285	0,068
Diabéticos		
PCR	-0,069	0,019
Endotelina	0,087	-0,065
Oxido nítrico	-0,299	-0,101
VCAM-1	-0,177	-0,227
Leptina	-0,517**	-0,311
Hipertensos		
PCR	0,087	0,247
Endotelina	0,065	-0,277
Oxido nítrico	-0,341	-0,374
VCAM-1	0,129	0,170
Leptina	0,041	0,117

(*) Correlación es significativa con $p < 0,05$

(**) Correlación es significativa con $p < 0,01$

Según la Tabla 3, hubo relación estadística significativa a los 0 minutos, siendo la correlación inversa y significativa respecto a la PAS ($r = -0,517$; $p < 0,01$). A los 30 minutos, ninguna variable correlacionó respecto a la PAS.

Al correlacionar la PAD con las hormonas endoteliales, solo la VCAM-1 correlacionó de manera inversa y significativa, en el grupo sanos ($-0,471$). Por último, como se evidencia en la Tabla 4, en la PAM, a los 0 minutos, todas las correlaciones fueron inversas y significativas, la PCR en el grupo sanos ($r = -0,523$; $p < 0,05$); la Leptina en el grupo diabéticos ($r = -0,494$; $p < 0,05$) y el Óxido Nítrico en el grupo hipertensos ($r = -0,499$; $p < 0,05$). A los 60 minutos, la PCR tuvo correlación significativa con la PAM en el grupo hipertensos ($r = 0,424$; $p < 0,05$); por último, a los 90 minutos, la relación de la PAM con la Endotelina fue positiva y significativa en el grupo sanos ($r = 0,449$; $p < 0,05$).

Tabla 4. Coeficientes de Correlación Lineal de Pearson de la PAM y las Variables Endoteliales.

Grupos	Seguimiento	
	0 min	30 min
Sanos		
PCR	-0,523*	-0,081
Endotelina	0,157	-0,031
Oxido nítrico	0,110	-0,137
VCAM-1	0,175	-0,211
Leptina	-0,133	0,162
Diabéticos		
PCR	0,093	0,076
Endotelina	0,298	-0,042
Oxido nítrico	-0,210	-0,093
VCAM-1	-0,203	-0,153
Leptina	-0,494*	-0,245
Hipertensos		
PCR	0,075	0,424*
Endotelina	-0,012	0,102
Oxido nítrico	-0,499*	-0,380
VCAM-1	-0,113	0,167
Leptina	0,075	0,135

(*) Correlación es significativa al nivel de 0,05

(**) Correlación es significativa al nivel de 0,01

En otro orden de ideas, a los fines de demostrar la utilidad de Endotelina, Oxido Nítrico, Leptina, Proteína C Reactiva y moléculas de adhesión endoteliales VCAM-1, como indicadores bioquímicos de disfunción endotelial, en sujetos diabéticos tipo 2 e hipertensos, se evidencian los resultados obtenidos de la aplicación de las curvas ROC, se seleccionaron las de mayor sensibilidad y especificidad.

En este sentido, la Endotelina como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes diabéticos tipo 2, indica los siguientes resultados:

Area bajo la curva: 0,706 (IC-95%: 0,560 – 0,826)
 $Z = 2,737$ ($p = 0,006$)

Valor del punto de corte: $> 3,47$; Sensibilidad: 56,0 (IC-95%: 34,9 – 75,6) y Especificidad: 80,0 (IC-95%: 59,3 – 93,2).

El Óxido Nítrico como indicador bioquímico de disfunción endotelial, en pacientes diabéticos tipo 2 arrojo los siguientes hallazgos:

Area bajo la curva: 0,732 (IC-95%: 0,588 – 0,847)
 $Z = 3,037$ ($p = 0,002$); Valor del punto de corte: $> 21,22$; Sensibilidad: 68,0 (IC-95%: 46,5 – 85,1) y Especificidad: 84,0 (IC-95%: 63,9 – 95,5).

La PCR como indicador bioquímico de disfunción endotelial, en pacientes diabéticos tipo 2; evidencio los siguientes resultados:

Area bajo la curva: 0,706 (IC-95%: 0,560 – 0,826)
 $Z = 2,725$ ($p = 0,006$); Valor del punto de corte: $> 0,3$; Sensibilidad: 68,0 (IC-95%: 46,5 – 85,1) y Especificidad: 72,0 (IC-95%: 50,6 – 87,9).

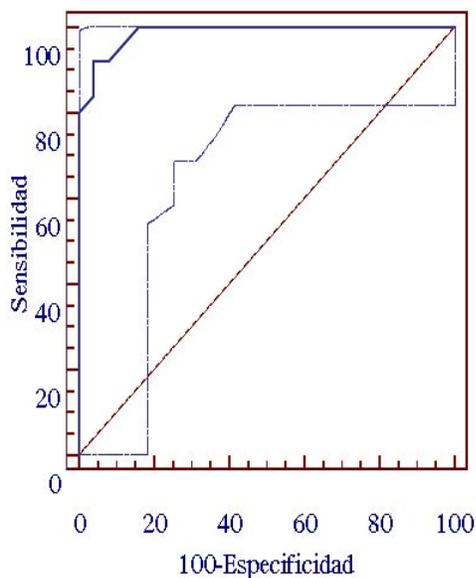


Gráfico 1. Curva ROC del VCAM-1, como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes diabéticos tipo 2.

El Gráfico 1, referido al VCAM-1, como indicador bioquímico de disfunción endotelial, en pacientes diabéticos tipo 2, permite evidenciar como resultados:

Area bajo la curva: 0,986 (IC-95%: 0,904 – 1,000)
 $Z = 46,114$ ($p = 0,001$)

Valor del punto de corte: $> 356,6$; Sensibilidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,0) y Especificidad: 96,0 (IC-95%: 79,6 – 99,9).

Leptina como indicador bioquímico de disfunción endotelial, en pacientes diabéticos tipo 2, permite evidenciar como resultados:

Area bajo la curva: 0,682 (IC-95%: 0,535 – 0,806)
 $Z = 2,385$ ($p = 0,017$)

Valor del punto de corte: $> 12,2$; Sensibilidad: 44,0 (IC-95%: 24,4 – 65,1) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97).

La Endotelina como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos, permite visualizar los siguientes resultados:

Area bajo la curva: 0,873 (IC-95%: 0,748 – 0,950)
 $Z = 7,813$ ($p = 0,001$)

Valor del punto de corte: $> 3,96$; Sensibilidad: 64,0 (IC-95%: 42,5 – 82,0) y Especificidad: 96,0 (IC-95%: 79,6 – 99,9).

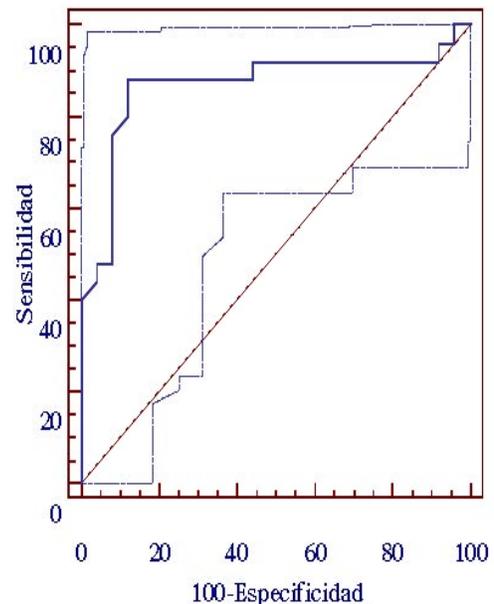


Gráfico 2. Curva ROC del Óxido Nítrico como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos.

En este mismo orden de ideas, el Óxido Nítrico como

indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos, permite corroborar los siguientes resultados:

Area bajo la curva: 0,869 (IC-95%: 0,743 – 0,948)
 $Z = 6,332$ ($p = 0,001$); Valor del punto de corte: $> 22,04$; Sensibilidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5).

La PCR como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos, destacan como resultados, los siguientes:

Area bajo la curva: 0,612 (IC-95%: 0,463 – 0,748)
 $Z = 1,375$ ($p = 0,169$); Valor del punto de corte: $> 0,4$; Sensibilidad: 41,7 (IC-95%: 22,1 – 63,4) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5)

Por su parte, la leptina como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos, destaca como resultados, los siguientes datos:

Area bajo la curva: 0,723 (IC-95%: 0,579 – 0,840)
 $Z = 2,909$ ($p = 0,004$); Valor del punto de corte: $> 12,23$; Sensibilidad: 64,0 (IC-95%: 42,5 – 82,0) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5).

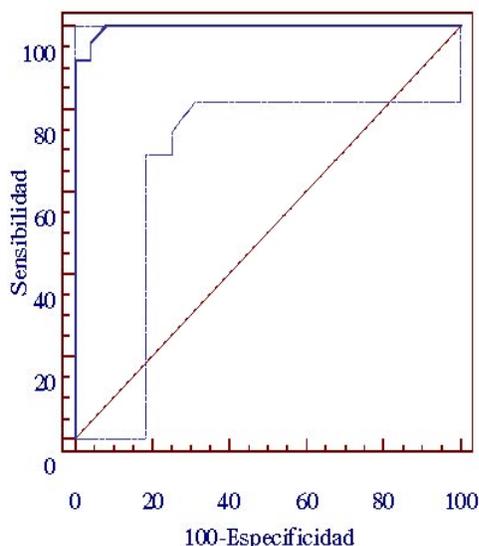


Gráfico 3. Curva ROC de VCAM-1 como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos.

Finalmente, en el Gráfico 3, inherente al VCAM-1 como indicador bioquímico de disfunción endotelial en pacientes hipertensos, se da evidencias de los siguientes resultados:

Area bajo la curva: 0,996 (IC-95%: 0,921 – 1,000)
 $Z = 114,802$ ($p = 0,001$); Valor del punto de corte: $> 340,62$; Sensibilidad: 100,0 (IC-95%: 86,3 – 100,0) y Especificidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,9).

DISCUSIÓN

Bajo condiciones fisiológicas debe existir un equilibrio entre factores vasodilatadores secretados por el endotelio vascular y factores vasoconstrictores; ambos son necesarios para lograr un adecuado control de la resistencia vascular y el gasto cardíaco. Cuando se altera el delicado balance entre estos 2 grupos de sustancias se establece el estado hipertensivo.

En armonía con estos planteamientos, Mendoza et al, 2009³¹ en su estudio sobre niveles séricos de óxido nítrico en pacientes con crisis hipertensiva, encontraron niveles significativamente bajos de ON en pacientes hipertensos con respecto a sus controles, lo que confirma lo establecido en reportes anteriores sobre la participación del ON en la fisiopatología de esta enfermedad. Igualmente, se demostró una correlación negativa significativa entre las concentraciones de ON y los valores de PA, hecho que ratifica la intervención de este factor en la regulación del tono vascular; estos datos coinciden con los resultados de la presente investigación, lo cual demuestra que efectivamente la concentración de óxido nítrico es menor en los sujetos hipertensos al contrastarlos con los sujetos controles, iguales diferencias se observan en sujetos diabéticos tipo 2. Si consideramos que en la hipertensión esencial y en la diabetes tipo 2, existe un estado inflamatorio permanente en el endotelio, y esta inflamación condiciona disfunción endotelial, es lógico postular, entonces que las concentraciones disminuidas ya referidas de óxido nítrico son las consecuencia del precipitado estado proinflamatorio.

Todavía existe controversia en cuanto a la utilidad clínica del ON, incluso se han establecido diferencias entre la concentración de niveles de nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2). Estos componentes juntos contribuyen a la medición del ON, (NO_x), y se ha demostrado que los niveles de nitrito son los principales indicadores de la funcionalidad de la sintetasa endotelial de óxido nítrico, no así los de nitrato³². Para profundizar, el valor de este hallazgo en nuestra data, sería necesario, además de establecer el tipo de ON predominante, determinar la cantidad de especies reactivas de oxígeno presentes, puesto que estas últimas son determinantes en la efectividad del ON plasmático³³. Además, evidencias recientes muestran que los niveles de óxido nítrico difieren si son tomados de arterias o de venas, encontrándose niveles más bajos en los últimos³⁴.

Con relación a la concentración de endotelina en pacientes diabéticos tipo 2 e hipertensos fue significativamente mayor que en pacientes sanos. Estos hallazgos

coinciden con los reportados por Gómez y Huerfano 2009³⁵, quienes concluyeron que la endotelina no presentó modificación alguna en sus niveles séricos en pacientes con Síndrome Metabólico tanto sin como con HTA. En conclusión, la alteración funcional de la Endotelina durante el proceso de disfunción endotelial contribuye a la patogenia de la hipertensión arterial por diferentes mecanismos vasoconstrictores, como por su capacidad para inducir hipertrofia de la musculatura lisa.

Los niveles plasmáticos de ET-1, han sido correlacionados con la severidad de algunos estados patológicos, tales como: insuficiencia cardíaca congestiva, que podría tener algún valor pronóstico. La vida media plasmática es de 4 a 7 minutos y se degrada en un 80 a 90 % en el primer pasaje por los pulmones y riñones³⁶. ET-1 tiene un poderoso efecto vasoconstrictor, además de acciones antinatriuréticas y mitogénicas, ejerciendo estos efectos biológicos a través de la activación de receptores específicos. Tanto por su poder vasoconstrictor como por su capacidad para inducir hipertrofia, podría participar en la patogénesis de la elevación de la presión arterial y/o en el mantenimiento de la misma como se postula en modelos animales experimentales y en hipertensión esencial en humanos.

El ON, la prostaciclina, el péptido atrial natriurético y la ET-3, entre otros, inhiben la producción de la ET-1. La ET-1, tendría un rol en el mantenimiento del tono basal vasomotor, principalmente por la estimulación de los ET-A de las CML, aunque la estimulación de los ET-B de las CML de las arterias coronarias también suelen inducir vasoconstricción.

La ET-1 está presente en cantidades apreciables en la circulación de individuos en condiciones normales y diferentes publicaciones han comunicado encontrar niveles plasmáticos muy pobremente aumentados e incluso normales, en diferentes modelos de hipertensión (animales) y en HTA en humanos. La explicación estaría dada si entendemos a la ET-1 como una hormona de acción fundamentalmente paracrina más que endocrina, ya que la mayor parte de la secreción se libera hacia las CML subyacentes en la pared vascular; de manera que las concentraciones encontradas en la circulación serían el sobrellenado del sistema y pueden no reflejar la producción vascular en la HTA¹¹.

Con respecto a la Molécula de adhesión endotelial VCAM-1, en 1993, Bevilacqua et al³⁷, demostraron que la adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio vascular es el paso fundamental para su extravasación durante la inflamación; este proceso está mediado por la

molécula de adhesión E-selectina. que incluye VCAM-1. La molécula de adhesión endotelial puede desprenderse de la superficie celular a la circulación y sus valores solubles pueden reflejar su expresión sobre la superficie endotelial. Los hallazgos obtenidos evidencian valores significativamente elevados de VCAM-1 en los pacientes diabéticos e hipertensos al contrastarlos con los pacientes sanos. Estos resultados concuerdan con los reportes de Lares y Col. 2006²⁸. Los resultados de VCAM-1 en la población normal oscilan entre 261,40 a 670,80 ng/dL y en los diabéticos tipo 2, entre 428,92 a 1795,30ng/dL, encontrándose significativamente ($p < 0,05$), más elevado en los pacientes diabéticos. El análisis de esta molécula permitirá evaluar de una manera rápida y sencilla la presencia de un proceso inflamatorio subclínico, pudiendo convertirse en un marcador del riesgo cardiovascular; y, también como parámetro de interés clínico en el seguimiento del paciente de riesgo moderado que se somete a cambios en su forma de vida.

Por otro lado, algunos estudios han revelado que la PCR puede ser también un indicador de enfermedad cardiovascular en población aparentemente sana³⁸. Sin embargo, la concentración de PCR en sangre es normalmente tan baja que se requiere una técnica especialmente sensible para medirla, esta prueba se llama PCR ultra sensible o PCR-us. La determinación de PCR-us se utiliza para predecir el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular en personas sanas, cuando la concentración de PCR-us se sitúa en el límite superior de la normalidad se considera que el riesgo de sufrir infarto de miocardio es de 1,5 a 4 veces mayor que en quienes la tienen en el límite inferior³⁹. En la presente investigación, los valores de PCR-us fueron significativamente más altos en pacientes diabéticos e hipertensos que en el grupo de pacientes sanos, lo cual es una clara evidencia de disfunción y activación endotelial, que se traduce en un incremento del riesgo clínico de enfermedad cardiovascular en pacientes hipertensos y diabéticos, concordando con la literatura al respecto³⁰. Otros hallazgos significativos resultaron al relacionar indicadores endoteliales (Óxido Nítrico, Endotelina, moléculas de adhesión endoteliales VCAM-1, Leptina y Proteína C Reactiva) con variables hemodinámicas no invasivas (PAS, PAD, PAM y FC) en sujetos diabéticos tipo 2 e hipertensos no presentan ninguna correlación con los valores de presión arterial sistólica en condiciones basales; por otra parte, la Leptina, en condiciones basales, presenta tendencia a correlacionar negativamente ($r = -0,517$; $p < 0,01$) con la presión arterial sistólica.

Al contrastar los indicadores endoteliales con presión arterial diastólica, solo VCAM-1 correlacionó de manera inversa y significativa, en el grupo sanos en condiciones basales.

Por otra parte, al minuto 0, todas las correlaciones fueron inversas y significativas, la PCR en el grupo sanos ($r = 0,523$; $p < 0,05$); la Leptina en el grupo diabéticos ($r = -0,494$; $p < 0,05$) y el ON en el grupo hipertensos ($r = -0,499$; $p < 0,05$). Al minuto 30, la PCR tuvo correlación significativa con la PAM en el grupo hipertensos ($r = 0,424$; $p < 0,05$). Lo cual se apoya con los resultados obtenidos en el estudio de Fouilloux et al, 2010⁴⁰; donde se probó el ON, la PCR y la leptina como indicadores bioquímicos de disfunción endotelial en una población de pacientes hipertensos y diabéticos, frente a un indicador indirecto de disfunción endotelial como lo fue la Prueba Presora por Frío (PPF).

Cabe destacar que en esta temática se ha propuesto una gran variedad de marcadores plasmáticos⁴¹, a saber: moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina), endotelina, PCR-us, inhibidor del activador del plasminógeno tisular, dimetil arginina asimétrica (ADMA), factor de Von Willebrand y, más recientemente, células progenitoras endoteliales. Las moléculas de adhesión y la endotelina no pueden ser medidas por la mayoría de laboratorios de análisis clínicos y sus concentraciones plasmáticas pueden no representar fiablemente los niveles tisulares de estas moléculas, que son los que realmente ejercen la acción.

Por otro lado, se ha concluido⁴² que la PCR a niveles elevados tiene valor predictivo de eventos cardiovasculares y guarda correlación con la función endotelial (a mayor PCR, menor vasodilatación endotelio-dependiente). Sus principales limitaciones son la interferencia con otros procesos inflamatorios y la no disponibilidad de la técnica ultrasensible en buena parte de laboratorios de análisis clínicos. Investigadores en el área como López-Jaramillo y col, 2007⁴³, señalan que la inflamación crónica está involucrada en la génesis de la HTA y que los niveles de PCR aumentados son un factor de riesgo independiente para el desarrollo de HTA esencial.

Estudios posteriores⁴⁴ han demostrado que niveles de PCR medidos en sangre periférica mayores a 3.5 mg/L se asocian con cifras tensionales sistólicas de alrededor de 140 mmHg y diastólicas de 90 mmHg. También se estableció claramente que los niveles de otros marcadores inflamatorios están aumentados en pacientes con HTA. Por otro lado, esta citoquina pro inflamatoria induce expresión de la metaloproteinas 2 en células

endoteliales, situación que perpetua la DE^{62c}. La presencia de marcadores inflamatorios aumentados ocasiona una disminución en la expresión de la eNOS, lo que predispone a un incremento en la resistencia vascular periférica e hipertensión.

La hipótesis de la respuesta biológica excesiva a la agresión mecánica de las fuerzas de rozamiento, sobre la base de un endotelio «sensible», ha sido propugnada para explicar la cascada de acontecimientos adversos que desencadenan y mantienen el proceso aterotrombótico, tanto en el envejecimiento como en la hipertensión arterial, así como en la DM evolucionada⁴². El componente inflamatorio tiene habitualmente un doble origen: uno de ellos es vascular y el otro, extravascular. En el primer caso, los estímulos de carácter mecánico, como las fuerzas de rozamiento y el estrés parietal, junto con la oxidación de las lipoproteínas y la acumulación de radicales libres, activan y mantienen el proceso, mientras que otros componentes extravasculares, como las citoquinas proinflamatorias y mensajeras (interleucina [IL] 6, factor de necrosis tumoral alfa, factor beta transformante de fibroblastos y MCP-1), junto con la acción de la angiotensina II, son clave para entender el proceso. El conjunto de todos estos agentes estimulantes promueve la expresión endotelial para la secreción de otras citoquinas inflamatorias (IL- 6) y otras moléculas de adhesión como las integrinas (ICAM, VCAM) y las selectinas que, a través de la estimulación hepática, facilitan la secreción de sustancias reactantes de fase aguda, como el amiloide sérico A, el fibrinógeno y la proteína C reactiva.

El conjunto de todos estos fenómenos incrementa la disfunción endotelial y aumenta la permeabilidad para elementos celulares, como leucocitos, linfocitos T y células espumosas, que inicialmente se instalan en la subíntima para más adelante promover la proliferación de células musculares lisas en capas arteriales más internas. En fases posteriores, la oxidación de las LDL, en particular las partículas pequeñas y densas de gran actividad aterogénica, la síntesis exagerada de matriz extracelular, la diferenciación macrofágica, la proliferación de células espumosas y los depósitos cálcicos configuran la placa de aterosclerosis, en cuyo núcleo crecen de manera desordenada microneovasos de paredes friables proclives al estallido.

Ante el propósito de demostrar la utilidad de Óxido Nítrico, Endotelina, moléculas de adhesión endoteliales VCAM-1 y Proteína C Reactiva como indicadores bioquímicos de disfunción endotelial, en sujetos diabéticos tipo 2 e hipertensos, cabe aseverar que la utilidad de una

prueba diagnóstica estará determinada por la percepción de su importancia que le asignen los usuarios. Con base en esta premisa, se determinó la sensibilidad, especificidad de los marcadores de disfunción endotelial en la población objeto de estudio. Una prueba es sensible y específica si es capaz de identificar a todos los que están enfermos como tales y a todos los sanos como tales. Es difícil tener una prueba muy sensible y a la vez muy específica, hay que tener información sobre los dos aspectos. Despierta un gran interés disponer de una técnica no invasiva que nos permita conocer el estado del endotelio vascular periférico y relacionarlo con la presencia de enfermedad, además de servir de instrumento para el seguimiento de los pacientes con esta enfermedad, aportando datos sobre su progresión y reversibilidad tras las adecuadas intervenciones terapéuticas.

La pregunta en la actualidad es si realmente esta técnica tiene algún tipo de utilidad práctica y, de ser así, en qué tipo de pacientes debería ser utilizada. Con respecto a la utilidad de esta técnica, en el momento actual, no se sabe con certeza si la presencia de DE aporta información adicional a aquella que ahora podemos obtener con otros métodos, particularmente en relación con el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con enfermedad arterial y/o diabetes. Tampoco existe suficiente evidencia científica sobre el efecto a largo plazo de intervenciones terapéuticas que mejoran la DE. En efecto, no conocemos si una mejoría de la DE, per se, se traduce necesariamente en un beneficio en la evolución clínica del enfermo.

En el estudio de Fouilloux et al⁴⁰, se demostró que existe una relación importante entre los marcadores bioquímicos y hemodinámicos para los grupos de pacientes estudiados. Se hallaron relaciones de concordancia entre el ON y la leptina, como indicadores de disfunción endotelial independientemente de factores como el IMC o la patología preexistente, con una alta especificidad pero con una pobre sensibilidad. La clinimetría practicada, es decir, los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, negativo y prevalencia de leptina versus PPF, no evidenciaron correlación trascendente entre ambos, razón por la cual disminuye la aplicabilidad clínica de la precitada asociación. Iguales resultados informaron al evaluar la relación de PCR y de ON al contrastarlo con la PPF (prueba de disfunción endotelial).

No obstante lo anterior, al evaluar la Sensibilidad: 56,0 (IC-95%: 34,9 – 75,6) y Especificidad: 80,0 (IC-95%: 59,3 – 93,2) de la endotelina como indicador de

disfunción endotelial en pacientes diabéticos tipo 2, se observa una especificidad aceptable. Entendida la especificidad de una prueba como la probabilidad de obtener un resultado negativo cuando el individuo no tiene la enfermedad; es decir, mide su capacidad para descartar la enfermedad cuando ésta no está presente, se puede afirmar que la misma resulta altamente orientadora como indicador de DE en pacientes diabéticos tipo 2. Hallazgos similares se obtuvieron al analizar la leptina, la cual arrojó una Sensibilidad: 44,0 (IC-95%: 24,4 – 65,1) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5); para el Óxido Nítrico resultó una Sensibilidad: 68,0 (IC-95%: 46,5 – 85,1) y Especificidad: 84,0 (IC-95%: 63,9 – 95,5); en el caso de Proteína C reactiva (PCR) Sensibilidad: 68,0 (IC-95%: 46,5 – 85,1) y Especificidad: 72,0 (IC-95%: 50,6 – 87,9); Finalmente el VCAM-1 en pacientes diabéticos reportó una Sensibilidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,0) y Especificidad: 96,0 (IC-95%: 79,6 – 99,9). Estos hallazgos permiten postular al VCAM-1 como la prueba más sensible y específica para evaluar pacientes diabéticos tipo 2 con DE, en concordancia con los hallazgos reportados en el estudio WHI³.

Al evaluar la Sensibilidad 64,0 (IC-95%: 42,5 – 82,0) y Especificidad: 96,0 (IC-95%: 79,6 – 99,9) de la endotelina como indicador de disfunción endotelial en pacientes hipertensos; se observa una alta especificidad como indicador de DE. Hallazgos similares se obtuvieron al analizar la leptina, la cual obtuvo una Sensibilidad: 64,0 (IC-95%: 42,5 – 82,0) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5); por su parte, el Óxido Nítrico arrojó una Sensibilidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5) y Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5); la Proteína C reactiva (PCR) Sensibilidad: 41,7 (IC-95%: 22,1 – 63,4) Especificidad: 88,0 (IC-95%: 68,8 – 97,5); Finalmente, el VCAM-1 en pacientes hipertensos evidenció como resultados, una Sensibilidad: 100,0 (IC-95%: 86,3 – 100,0) y Especificidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,9). Estos hallazgos permiten postular al VCAM-1 como la prueba más sensible y específica para evaluar pacientes hipertensos con DE.

CONCLUSIONES

1.- Óxido Nítrico, Endotelina, VCAM-1 y PCR no presentan ninguna correlación con los valores de presión arterial sistólica en condiciones basales.

2.- Al contrastar los indicadores endoteliales con presión arterial diastólica sólo VCAM-1, correlacionó de manera inversa y significativa, en el grupo sanos en condiciones basales, **3.-** La variable hemodinámica no

invasiva que mejor correlaciona con hormonas endoteliales es la PAM; las correlaciones fueron inversas y significativas en el caso de la PCR en el grupo sanos; la Leptina, en el grupo diabéticos tipo 2 y el Óxido Nítrico en el grupo hipertensos.

4.- El VCAM-1 en pacientes diabéticos tipo 2 posee una excelente Sensibilidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,0) y Especificidad: 96,0 (IC-95%: 79,6 – 99,9). Estos hallazgos permiten postular al VCAM- 1 como la prueba más sensible y específica para evaluar pacientes diabéticos tipo 2 con Disfunción Endotelial (DE).

5.- El VCAM-1 en pacientes hipertensos posee excelente Sensibilidad: 100,0 (IC-95%: 86,3 – 100,0) y Especificidad: 92,0 (IC-95%: 74,0 – 99,9). Estos hallazgos permiten postular al VCAM- 1 como la prueba más sensible y específica para evaluar pacientes hipertensos con DE.

6.- La alteración funcional de la Endotelina y Óxido Nítrico durante el proceso de disfunción endotelial contribuye a la patogenia de la hipertensión arterial por diferentes mecanismos vasoconstrictores, como por su capacidad para inducir hipertrofia de la musculatura lisa.

REFERENCIAS

- 1.-** Contreras F. Respuesta hemodinámica, endotelial y metabólica a la metoclopramida y dopamina en sujetos sanos, diabéticos tipo 2 e hipertensos [Trabajo de ascenso]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2010.
- 2.-** Contreras F, Rivera M, Vásquez J, De la Parte MA, Velasco M. Endothelial dysfunction in arterial hypertension. *J Human Hypertension*. 2000; 14: S20-S25.
- 3.-** Song Y, Manson JE, Tinker L, et al.: Circulating levels of endotelial adhesión molecules and risk of diabetes in an ethnically diverse cohort of women. *Diabetes*. 2007; 56:1898-904.
- 4.-** McNulty PH, Pfau S, Deckelbaum LI. Effect of plasma insulin level on myocardial blood flow and its mechanism of action. *Am J Cardiol*. 2000; 85:161-65.
- 5.-** Kuperstein R, Sazón Z. Effects of antihypertensive therapy on glucose and insulin metabolism and on left ventricular mass. *Circulation* 2000;102:1802-06.
- 6.-** Meehan WP, Darwin CH, Maalouf NB, Buchanan TA, Saad M. Insulin and hypertension: are they related?. *Steroids*. 1993; 58:621–634.
- 7.-** Modan M, Halkin H, Almong S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, Shitrit A, Fuchs Z. Hyper-insulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest*. 1985; 75: 809–817.
- 8.-** Baba T, Neugebauer S. The link between insulin resistance and hypertension. *Drugs*. 1994;47:383–404.
- 9.-** Epstein M, Sowers JR. Diabetes Mellitus and hypertension. *Hypertension*. 1992;19: 403–418.
- 10.-** Briceño S y Silva E. Insulina, hipertensión y diabetes. *Rev Latinoam Hipertens*. 2007; 2(2):65-69.
- 11.-** Carmine Cardillo; Crescence M. Kilcoyne; Richard O. Cannon, III; Julio Panza. Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo. *Hypertension* 2000;35: 1237.
- 12.-** American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004; 27 Suppl 1: S5-S10.
- 13.-** Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jones PW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT & Rocella EJ. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. The JNC 7 Report. *JAMA*. 2003; 289:2560-2572.
- 14.-** Contreras F, Rivera M, De la Parte M, Rodríguez S, Méndez O, Papapietro A. et al. Valoración del Paciente Hipertenso. *Rev Fac Med (Caracas)*. 2000; 23: 11 - 18.
- 15.-** Fragachan F, Chuki E y Sanabria A. Manual de Normas y Procedimientos para el estudio del paciente con presión arterial elevada: Hipertenso. Caracas: Editorial Olympia; 2001.
- 16.-** Owen WE, Roberts WL. Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. *Clin Chem*. 2004;50(1):257-9.
- 17.-** Bergmeyer HU. Standardization of enzyme assays. *Clin Chem*. 1972;18(11):1305-11.
- 18.-** Sacks, DB; Bruns, DE; Goldstein, DE; Maclaren, NK; McDonald, JM; Parrott, M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem*. 2002;48(3): 436-72.
- 19.-** Trivelli, LA; Ranney, HM; Lai, HT. Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1971 Feb 18;284(7):353-7.
- 20.-** Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7): 412-419.
- 21.-** Turner et al. Measurement of insulin resistance and β -cell function: the HOMA and CIGMA approach. Current topics in diabetes research (eds) F. Belfiore, R. Bergman and G. Molinatti *Front Diabetes*. 1993; Basel, Switzerland: Karger 12: 66-75.

- 22.-** Blum WP, Englaro P, Hanitsch S et al: Plasma leptin levels in healthy children and adolescents; dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage and testosterone J Clin Endocr Metab. 1997; 82: 2904-10.
- 23.-** Malmstrom R, Taskinen MR, iKaronen SL et al: Insulin increases plasma leptin concentrations in normal subjects and patients with non insulin dependent diabetes mellitas NIDDM. Diabetologia. 1996; 39: 993-6.
- 24.-** Roberts et al. PCR in Bioinformatics. Advance Access published online Bioinformatics doi:10.1093/bioinformatics/btg491. Bioinformatics © Oxford University Press; 2001.
- 25.-** Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] Nitrate in biological fluids. Anal Biochem. 1982;126:131-138.
- 26.-** Moshage H. Nitric oxide determinations: Much ado about NO•Thing. Clin Chem. 1997;43, 553-556.
- 27.-** Badimón y Martínez-González. Disfunción endotelial. Actualización y futuro del óxido nítrico en el tratamiento de la enfermedad cardiovascular. Rev Esp Cardiol Supl. 2006; 6:21A-30A.
- 28.-** Lares, Mary; Castro, Jorge; Brito, Sara; Obregón, Oswaldo. Evaluación de un marcador de inflamación vascular vcam-1 y su asociación con factores protromboticos en una población normal y otra con diabetes tipo 2. Arch. Venez Farmacol Ter. 2006; 25(2):92-95.
- 29.-** Nguyen BN & Johnson JA. The Role of Endothelin in Heart Failure and Hypertension. Pharmacotherapy. 1998; 18(4):706-719.
- 30.-** Burgueño MJ, García-Bastos JL y González-Buitrago JM. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. Unidad de Investigación, Hospital Universitario Salamanca y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Salamanca. Med Clín (Barc). 1.995; 104(17): 50-51.
- 31.-** Mendoza L, Bermúdez V, et al. Niveles séricos de óxido nítrico en pacientes con crisis hipertensiva. Rev Latinoam Hipertens. 2009; 4(2):39-42.
- 32.-** Lauer T, Preik M, Rassaf T, Strauer B, Deussen A, Feelisch M. et al. Plasmanitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action. PNAS. 2001; 98(22): 2814-2819.
- 33.-** Heitzer, T., Schlinzig, T., Krohn, K., Meinertz, T. y Munzel, T. Endothelial Dysfunction, Oxidative Stress, and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease. Circulation. 2001;104(22): 2673-2678.
- 34.-** Cicinelli E, IgnarroLJ, Schonauer LM, Matteo MG, Galantino P y Falco N. Different plasma levels of nitric oxide in arterial and venous blood. Clinical Physiology. 1999;19(5):440-442.
- 35.-** Gómez AE y Huérfano ST. Angiotensina II, Endotelina y Proteína C Reactiva. Pacientes con Síndrome Metabólico [Trabajo Especial de Grado]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2009.
- 36.-** Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, et al, Peroxisome Proliferator- Activated Receptor Activators Inhibit Thrombin-Induced Endothelin-1 Production in Human Vascular Endothelial Cells by Inhibiting the Activator Protein-1 Signaling Pathway. Circ Res. 1999; 85:394-402.
- 37.-** Bevilacqua MP. Endothelial leukocyte adhesion molecules. Ann Rev Immunol. 1993; 11:767-804.
- 38.-** Duque J, Maiorana C, Millán M, Tovar S, Pellino M, et al. Más allá de la prevención primaria: Utilidad de la Proteína C Reactiva ultra sensible como herramienta en el diagnóstico de enfermedad arterial coronaria[resumen]. En: VIII Congreso Venezolano de Hipertensión Hospital Militar de Caracas. Rev Latinoam Hipertension. 2009; 4 (Suppl 1): S-24.
- 39.-** Ridker PM, Libby P. Risk Factors for Atherothrombotic Disease. In: Libby P, Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, eds. Braunwald's Heart Disease: Textbook of Cardiovascular Medicine. 8th ed. Philadelphia: Saunders. Elsevier; 2007.
- 40.-** Fouilloux C, Contreras F, et al. Haemodynamical Variables Versus Endothelial Hormones in Hypertensive and Type 2 Diabetic Patients With Endothelial Dysfunction. Am J Ther. 2010: 17, 306–319.
- 41.-** Galcerán, JM. Aplicación práctica de la exploración endotelial. Hipertensión (Madr.). 2007;24(4):176-80.
- 42.-** Wang TD, Chen WJ, Cheng WC, Lin JW, Chen MF, Lee YT. Relation of improvement in endothelium-dependent flowmediated vasodilation after rosiglitazone to changes in asymmetric dimethylarginine, endothelin-1, and C-reactive protein in nondiabetic patients with the metabolic syndrome. Am J Cardiol. 2006; 98:1057-62.
- 43.-** López-Jaramillo P, Rincón M y Silva S. Papel del endotelio en la hipertensión. Rev. Latinoam Hipertens. 2007; 2(5):135-140.
- 44.-** Yamada S, Gotoh T, Nakashima Y, Kayaba K, Ishikawa S, Nago N, et al. Distribution of serum C-reactive protein and its association with atherosclerotic risk factors in a Japanese population: Jichi Medical School Cohort Study. Am J. Epidemiol. 2001;153(12):1183-90.