

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA



DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA

**ADIPOCITOCINAS COMO MARCADORES PARA LA VALORACIÓN DEL  
PRONÓSTICO Y TERAPÉUTICA DE LA ENFERMEDAD VASCULAR  
PERIFÉRICA EN LA INSULINO-RESISTENCIA**

MIGUEL ÁNGEL TORRES WILCHES

Noviembre de 2008



**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA**

Trabajo de tesis para optar al grado de Doctor en Farmacia, titulado:

**ADIPOCITOCINAS COMO MARCADORES PARA LA VALORACIÓN DEL  
PRONÓSTICO Y TERAPÉUTICA DE LA ENFERMEDAD VASCULAR  
PERIFÉRICA EN LA INSULINO-RESISTENCIA**

Realizado por: Miguel Ángel Torres Wilches

**VºBº.** Prof. Dr. D. Rafael Jiménez  
Director Departamento de Fisiología y Farmacología

El Profesor Catedrático Dr. D. Julio Moratinos Araces del Departamento de Fisiología y Farmacología, y las Profesoras Dra. Da. María Josefa García Barrado y Dra. Da. María del Carmen Iglesias Osma, profesoras titulares del Departamento de Fisiología y Farmacología.

**CERTIFICAN:**

Que el licenciado en Química Farmacéutica Miguel Ángel Torres Wilches, de la Universidad Nacional de Colombia, ha realizado en este Departamento y bajo su dirección, el trabajo titulado **“Adipocitocinas como marcadores para la valoración del pronóstico y terapéutica, de la enfermedad vascular periférica en la insulino-resistencia.”**, para optar al grado de Doctor en Farmacia, y considerándolo finalizado, autorizan su presentación para que sea juzgado por el tribunal correspondiente.

Para que así conste, firman el presente certificado en Salamanca, a 18 de Octubre de 2008.

---

Prof. Dr. D. Julio Moratinos Araces

---

Prof. Dra. Da. Maria Josefa García Barrado

---

Prof. Dra. Da. Maria del Carmen Iglesias Osma

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>17</b>
	<b>2.1 ADIPONECTINA</b>	<b>19</b>
	<b>2.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ADIPONECTINA</b>	<b>22</b>
	<b>2.3 OTROS COMPONENTES DE ACCIÓN</b>	<b>23</b>
	<b>2.4 ADIPONECTINA COMO MARCADOR DE ENFERMEDAD</b>	<b>24</b>
	2.4.1 Obesidad	24
	2.4.2 Enfermedad Cardiovascular	25
	2.4.2 Disfunción Vascular	25
	2.4.3 Enfermedad Vascular Periférica	26
	2.4.4 Inflamación y Aterosclerosis	27
	2.4.5 Cardiopatía coronaria	29
	2.4.6 Isquemia Coronaria y Adiponectina	30
	2.4.7 Hipertensión	30
	2.4.8 Resistencia a la Insulina y Diabetes Mellitus Tipo 2	30
	2.4.9 Dislipidemia	31
	2.4.10 Efectos Metabólicos de la Adiponectina	32
	<b>2.5 INTERVENCIONES QUE AUMENTAN LOS NIVELES DE ADIPONECTINA</b>	<b>32</b>
	<b>2.6 FÁRMACOS EN EL TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA ASOCIADA A LA ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA</b>	<b>33</b>
	2.6.1 Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) (Enalapril)	34
	2.6.2 Bloqueadores del Receptor 1 de Angiotensina II (ARB)	37
	2.6.3 $\beta$ -Bloqueadores (Metoprolol)	39
	2.6.4 Calcioantagonistas (Amlodipino)	40
	2.6.5 Nitratos Orgánicos y Derivados (5MNIS)	40
	2.6.6 Diuréticos (Furosemida)	41
	2.6.7 Antiagregantes Plaquetarios (Ácido acetyl salicílico - AAS)	42
	2.6.8 Hipolipemiantes (Simvastatina)	44

2.6.9	Hipoglicemiantes Orales (TZD, Biguanidas, SU)	46
2.6.9.1	Tiazolidindionas (TZD) (Rosiglitazona)	47
2.6.9.2	Biguanidas (Metformina)	48
2.6.9.3	Sulfonilúreas (SU) (Glibenclamida)	49
2.6.10	Terapias Combinadas	51
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>54</b>
<b>4</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>56</b>
<b>4.1</b>	<b>PROTOCOLO DE PRUEBA Y EVALUACIÓN DE FÁMACOS EN RATÓN CD1</b>	<b>57</b>
<b>4.2</b>	<b>DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD LIPOLÍTICA</b>	<b>59</b>
<b>4.3</b>	<b>DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES</b>	<b>60</b>
<b>4.4</b>	<b>METODOLOGIA PARA LA OBTENCIÓN DE ISLOTES PANCREÁTICOS</b>	<b>61</b>
<b>4.5</b>	<b>DETERMINACIÓN DE INSULINA</b>	<b>61</b>
<b>4.6</b>	<b>DETERMINACIÓN DE ADIPONECTINA PLASMÁTICA</b>	<b>62</b>
<b>4.7</b>	<b>EVALUACIÓN DE FÁRMACOS EN EL TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA, ASOCIADA A LA ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA</b>	<b>64</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>66</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>109</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>120</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>121</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b>	Productos derivados del tejido adiposo, mecanismos de daño vascular.	18
<b>FIGURA 2.</b>	Estructura primaria (A) y diversas formas circulantes (B) de la adiponectina.	20
<b>FIGURA 3.</b>	Esquema de señalización y efectos de la adiponectina, en el metabolismo de los ácidos grasos y de la glucosa.	23
<b>FIGURA 4.</b>	Mecanismos y Vías de Señalización Celular para la adiponectina.	24
<b>FIGURA 5.</b>	Ilustración de tejidos objetivo de la adiponectina, posible modo de acción y regulación.	25
<b>FIGURA 6.</b>	Efectos antiinflamatorios y antiateratogénicos de la adiponectina.	26
<b>FIGURA 7.</b>	Efecto antiateratogénico de la adiponectina y efecto de otras adipocinas.	27
<b>FIGURA 8.</b>	Posible mecanismo molecular de la adiponectina, para reducir los efectos inflamatorios.	28
<b>FIGURA 9.</b>	Acción de las hormonas derivadas del adipocito, en la función endotelial	29
<b>FIGURA 10.</b>	Cambios fisiopatológicos asociados con la activación del RAS en el tejido adiposo en la obesidad.	35
<b>FIGURA 11.</b>	Mecanismos potenciales del RAS que afectan la sensibilidad a la insulina y el transporte de glucosa en el músculo esquelético.	36
<b>FIGURA 12.</b>	Posible actividad metabólica de importancia en la acción relajante de músculo liso vascular de esteres de nitrato orgánicos.	41
<b>FIGURA 13.</b>	Mecanismo propuesto por el cual la simvastatina reduce la diabetes inducida por la disfunción endotelial.	46

## INDICE DE GRÁFICAS

<b>GRÁFICA 1a.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con cada uno de los fármacos de la primera fase.	69
<b>GRÁFICA 1b.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con cada uno de los fármacos de la primera fase.	70
<b>GRÁFICA 1b.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con fármacos de la primera fase, continuación.	71
<b>GRÁFICA 2a.</b>	Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con AAS y Furosemida (fármacos 1ª fase).	73
<b>GRÁFICA 2b.</b>	Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con Metoprolol y Amlodipino (fármacos 1ª fase).	75
<b>GRÁFICA 2c.</b>	Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con Enalapril y 5MNIS (fármacos 1ª fase).	77
<b>GRÁFICA 3a.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con AAS y Furosemida (fármacos 1ª fase).	81
<b>GRÁFICA 3b.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con Metoprolol y Amlodipino (fármacos 1ª fase).	82
<b>GRÁFICA 3c.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con Enalapril y 5MNIS (fármacos 1ª fase).	83
<b>GRÁFICA 4.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de insulina de ratones hembra, postratamiento con AAS, Furosemida, Enalapril y 5MNIS (1ª fase)	85
<b>GRÁFICA 5.</b>	Representación de la secreción de insulina de islotes aislados de ratones hembra, postratamiento con 5MNIS, Furosemida y Captopril (1ª fase), en respuesta a glucosa <i>in vitro</i> .	87
<b>GRÁFICA 6a.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con Telmisartan y Simvastatina (fármacos 2ª fase).	90
<b>GRÁFICA 6b.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con Rosiglitazona y Metformina (fármacos 2ª fase).	91
<b>GRÁFICA 6c.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con Glibenclamida (fármaco 2ª fase).	92
<b>GRÁFICA 6d.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con Telmisartan y Simvastatina (fármacos 2ª fase).	93
<b>GRÁFICA 6e.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con Rosiglitazona y Metformina (fármacos 2ª fase).	94
<b>GRÁFICA 6f.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con Glibenclamida (fármaco 2ª fase).	95
<b>GRÁFICA 6g.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con Telmisartan y Simvastatina (fármacos 2ª fase).	96



<b>GRÁFICA 6h.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con Rosiglitazona y Metformina (fármacos 2ª fase).	97
<b>GRÁFICA 6i.</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con Glibenclamida (fármaco 2ª fase).	98
<b>GRÁFICA 7a.</b>	Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con Telmisartan y Simvastatina (fármacos 2ª fase).	101
<b>GRÁFICA 7b.</b>	Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con Rosiglitazona y Metformina (fármacos 2ª fase).	102
<b>GRÁFICA 7c.</b>	Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con Glibenclamida (fármacos 2ª fase).	103
<b>GRÁFICA 8</b>	Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, en pacientes control con PAOD y pacientes con DM2 y PAOD.	107

## INDICE TABLAS

<b>TABLA 1.</b>	Dosis de prueba de fármacos fase 1 y fase 2 en ratón CD1.	58
<b>TABLA 2a.</b>	Resultados de los niveles plasmáticos de adiponectina y NEFA (1ª fase).	67
<b>TABLA 2b.</b>	Resultados de los niveles plasmáticos de adiponectina y NEFA (1ª fase).	68
<b>TABLA 3a.</b>	Resultados de la lipólisis en adipocitos de ratón, tras el tratamiento crónico con ASA y Furosemida.	72
<b>TABLA 3b.</b>	Resultados de la lipólisis en adipocitos de ratón, tras el tratamiento crónico con Metoprolol y Amlodipino.	74
<b>TABLA 3c.</b>	Resultados de la lipólisis en adipocitos de ratón, tras el tratamiento crónico con Enalapril y 5MNIS.	76
<b>TABLA 4a.</b>	Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas por FK y UK en adipocitos de ratones hembra (1ª fase).	78
<b>TABLA 4b.</b>	Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas por FK y UK en adipocitos de ratones macho (1ª fase).	79
<b>TABLA 5.</b>	Resultados de la glucosa plasmática en ratones, tratados con fármacos de la primera fase.	80
<b>TABLA 6.</b>	Resultados de secreción de insulina en ratón <i>in vivo</i> , postratamiento con AAS, Furosemida, Enalapril y 5MNIS.	84
<b>TABLA 7.</b>	Resultados de secreción de insulina <i>in vitro</i> de islotes aislados de ratones hembra, y tratados con 5MNIS, Furosemida y Captopril.	86
<b>TABLAS 8a y 8b.</b>	Valores los parámetros determinados en ratones macho y hembra, con los fármacos de la primera fase.	88
<b>TABLA 9.</b>	Resultados de los niveles plasmáticos de adiponectina, NEFA y glucosa, tratados con fármacos de la 2ª fase.	89
<b>TABLA 10a.</b>	Resultados de la lipólisis en adipocitos de ratón, tras el tratamiento crónico con Telmisartán, Simvastatina, Rosiglitazona y Metformina.	99
<b>TABLA 10b.</b>	Resultados de la lipólisis en adipocitos de ratón, tras el tratamiento crónico con Glibenclamida.	100
<b>TABLA 11a.</b>	Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas por FK y UK en adipocitos de ratones hembra (2ª fase).	104
<b>TABLA 11b.</b>	Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas por FK y UK en adipocitos de ratones macho (2ª fase).	105
<b>TABLA 12a y 12b.</b>	Valores los parámetros determinados en ratones macho y hembra, con los fármacos de la segunda fase.	106
<b>TABLA 13</b>	Datos clínicos y farmacoterapéuticos de los pacientes con PAOD y/o DM2, involucrados en el estudio.	108

## ABREVIATURAS USADAS

**IR:** Resistencia a la insulina  
**VEC:** Células del endotelio vascular  
**VSHC:** Células del músculo liso vascular  
**FFA:** Ácidos grasos libres  
**NEFA:** Ácidos grasos libres no esterificados  
**BMI:** Índice de masa corporal  
**TG:** Triglicéridos  
**TAG:** Triacilglicerol  
**DAG:** Diacilglicerol  
**HLD:** Lipoproteínas de alta densidad  
**LDL:** Lipoproteínas de baja densidad  
**LDL-ox:** Lipoproteínas de baja densidad oxidadas  
**IDL:** Lipoproteínas de densidad intermedia  
**VLDL:** Lipoproteínas de muy baja densidad  
**CT:** Colesterol total  
**C-HDL:** Colesterol de lipoproteínas de alta densidad  
**C-LDL:** Colesterol de lipoproteínas de baja densidad  
**C-VLDL:** Colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad  
**PVD:** Enfermedad vascular periférica  
**PAD:** Enfermedad arterial periférica  
**IECA:** Inhibidores del enzima convertidor de angiotensina  
**ECA:** Enzima convertidor de angiotensina  
**ARB:** Bloqueantes de receptores de angiotensina  
**TZD:** Tiazolidindionas  
**SU:** Sulfonilureas  
**AAS:** Ácido acetyl salicílico  
**HTA:** Hipertensión arterial  
**CRP:** Proteína C reactiva  
**CAD:** Enfermedad de arteria coronaria  
**DM:** Diabetes mellitus (**DM2:** Diabetes mellitus tipo 2)  
**AdipoHMW:** Adiponectina de alto peso molecular  
**gAD:** Adiponectina globular  
**NFκB:** Factor nuclear κ B  
**PPARα y γ:** Receptores de peroxisomas activados por proliferadores tipo α y γ  
**TNF-α:** Factor de necrosis tumoral α  
**PAI-1:** Inhibidor del activador del plasminógeno  
**IL:** Interleucinas 2, 6, 8, 10  
**AMP:** Monofosfato de adenosina (**AMPc:** cíclico)  
**AMPK:** Proteín cinasa dependiente de AMP  
**MAPK:** Proteín sinasa activada por mitógenos  
**AdipoR<sub>1 y 2</sub>:** Recetores de adiponectina 1 y 2  
**NO:** Óxido nítrico  
**NOSe:** Óxido nítrico sintasa endotelial  
**IRS:** Sustrato receptor de insulina (1 y 2)  
**ATP:** Adenosintrifosfato  
**CPT-1:** Carnitina palmitoil transferasa 1  
**CoA:** Coenzima A  
**PKA:** Proteín cinasa A

**PKB:** Proteín cinasa B  
**PKCu:** Proteín cinasa Cu  
**ROS:** Espécies reactivas de oxígeno  
**GLUT4:** Transportador 4 de glucosa  
**ACC:** Acil coenzima A carboxilasa  
**PI3K:** Fosfatidilinositol 3 cinasa  
**EDV:** Vasodilatación endotelio dependiente  
**PAOD:** Enfermedad arterial periférica oclusiva  
**ACS:** Síndrome coronario agudo  
**CIMT:** Engrosamiento de la íntima media carotídea  
**VCAM-1:** Moléculas 1 de adhesión celular vascular  
**ICAM-1:** Moléculas 1 de adhesión intracelular  
**CHD:** Enfermedad cardíaca coronaria  
**RNA<sub>m</sub>:** Ácido ribonucleico mensajero  
**AT1R:** Receptor 1 de angiotensina II  
**RAS:** Sistema renina-angiotensina  
**NIDDM:** Diabetes mellitus no insulino dependiente  
**Ang I y II:** Angiotensina I y angiotensina II  
**LSH:** Lipasa sensible a las hormonas  
**COX:** Ciclooxygenasa  
**HMG-CoA-reductasa:** Hidroxi metal glutaril CoA reductasa  
**HbA1c:** Hemoglobina glicosilada  
**LPL:** Lipoproteín lipasa  
**CAT:** Carnitina acil transferasa

## AGRADECIMIENTOS

En primer termino, como artífice y promotor del trabajo hoy presentado, por todo el conocimiento que me trasmitiera junto con sus valiosas experiencias como investigador, me permito agradecer al Profesor Dr. Don Julio Moratinos Areces, por su acertada y oportuna dirección del trabajo de tesis doctoral.

A mis directoras Dra. Doña Maria del Carmen Iglesias Osma y Dra. Doña María Josefa García Barrado, mi mayor agradecimiento por su incondicional acompañamiento y colaboración tanto profesional como personal, durante el desarrollo del trabajo de tesis.

A los especialistas del departamento de cirugía vascular del Hospital Universitario de Salamanca, y muy especialmente al Dr. Don Arturo Almazán y con él a su principal colaboradora, todo mi agradecimiento por su desinteresada ayuda, colaboración y amistad, brindadas durante la evaluación clínica del presente estudio y por todo el interés mostrado durante el proceso de obtención de muestras.

A la Fundación Carolina y la Universidad Nacional de Colombia, por su apoyo económico y administrativo irrestricto, y todo el respaldo suministrado para la consecución de esta importante meta, doy mi más preciado reconocimiento con toda mi gratitud.

A todos los amigos y conocidos, que durante el desarrollo de mis estudios en España, estuvieron presentes en los momentos más importantes, mi más sincero agradecimiento por su comprensión y amistad.

A toda mi familia, pero principalmente a mi madre Fanny, por su ejemplo de vida y gran respaldo a mis proyectos, y con ella a mi padre, a cada uno de mis hermanos y todos y cada uno de mis sobrinos; quienes han sido la principal motivación en el desarrollo de mi formación profesional, agradezco todo su sincero amor y acompañamiento permanente a pesar de la distancia, sin lo cual todo lo realizado perdería sentido.

Un rotundo y póstumo agradecimiento, a mi desaparecida hermana Irma Mercedes, de quien a pesar del tiempo, aún recibo el mejor y más bello ejemplo de vida y toda la fortaleza, que la caracterizó.

***El vacío de tu partida en mi alma no se llena con nada,  
tan solo tu cariño, tu gran fortaleza y coraje, hoy me  
son el mejor ejemplo a seguir, para enfrentar y vencer  
las adversidades y alcanzar el éxito en los objetivos  
que me he trazado.***

***En homenaje a la memoria de mi  
querida hermanita,***

***Irma Mercedes (Mochis)***



## Introducción

En el estilo de vida de la sociedad actual, cobran gran importancia las anomalías metabólicas, que interrelacionan varias condiciones como resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, dislipidemia y obesidad, llevando al desarrollo de disfunción de células endoteliales vasculares, hipertensión y trombosis.

La obesidad está caracterizada por el exceso de grasa en el organismo, en la que se considera más importante, el lugar de localización que la cantidad de grasa acumulada. Es así que la obesidad visceral (grasa epiloica), se considera con mayor riesgo de morbimortalidad, que la subcutánea o periférica. Este hecho se explica, porque la visceral es más susceptible a la acción de las catecolaminas y menos sensible a la insulina, por lo que se considera un marcador de resistencia a esta y de diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2.<sup>1,2,3</sup>

Además de reserva energética, el tejido adiposo produce y libera numerosas sustancias con función autocrina, paracrina y endocrina. La gran actividad endocrina desarrollada por los adipocitos, se cumple a través de la secreción de múltiples hormonas y factores de crecimiento, colectivamente llamadas adipocinas o adipocitocinas. Las alteraciones en la producción de adipocitocinas, están relacionadas con el desarrollo de obesidad, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular.<sup>1,3,4,5</sup>

La Enfermedad Vascul Periférica (PVD) o Enfermedad Arterial Periférica (PAD), es un trastorno de la circulación, lento y progresivo, suscitado por los factores antes descritos. Dentro de estos trastornos se incluyen trombosis venosa profunda, venas varicosas e insuficiencia venosa crónica, enfermedad coronaria y la aterosclerosis. La PVD suele estar caracterizada por un estrechamiento de los vasos sanguíneos, que transportan sangre a los músculos de las piernas y los brazos. La causa más común es la aterosclerosis.

La adiponectina es una proteína secretada por el tejido adiposo, exclusivamente en los adipocitos diferenciados, que al contrario de otros factores, trabaja como protectora de enfermedades cardiovasculares y aumentando la sensibilidad a la insulina.<sup>6</sup>

Sin estar totalmente definidas las actividades fisiológicas y fisiopatológicas mediadas por la adiponectina, podría ser objetivo del tratamiento de diversas patologías relacionadas con la obesidad, generando aún investigaciones para su elucidación. Igualmente, es preciso esclarecer de qué forma los fármacos usados en la terapia de estas patologías, marcan incidencia sobre las actividades de la adiponectina en los organismos tratados, de tal forma que en el desarrollo de la presente investigación, se hace evaluación de la actividad de los representantes de grupos farmacológicos como antihipertensivos (IECA (enalapril), ARB (telmisartan),  $\beta$ -bloqueadores (metoprolol) y calcioantagonistas (amlodipino)), hipoglucemiantes orales (TZD (rosiglitazona), biguanidas (metformina), SU (glibenclamida)), hipolipemiantes (simvastatina), nitratos orgánicos (mononitrato de isosorbide), diuréticos (furosemida), antiagregantes plaquetarios (aspirina)), sobre los niveles circulantes de adiponectina y factores relacionados, como género, lipólisis, nivel de ácidos grasos libres, glucosa y secreción de insulina, en el desarrollo y evolución de la PVD.

---

<sup>1</sup> Kato H. y col. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.224-30.

<sup>2</sup> Tsatsanis C. *Biochem. Biophys. Res. Común.* 2005, v.335, p.1254-63.

<sup>3</sup> Iglesias Osma M.C. y col. *Rev.Clin. Esp.* 2008; v.208, n.5, p.239-46.

<sup>4</sup> Lihn A.S. y col. *Obesity Reviews.* 2005; v.6, p.13-21.

<sup>5</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis.* 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>6</sup> Mahmud A., Feely J. *Am. J. Hypertens.* 2005; v.18, p.1543-8.



## MARCO TEORICO

La obesidad predispone a un incrementado riesgo de desarrollar enfermedades como aterosclerosis, diabetes, enfermedad hepática grasa no alcohólica, algunos tipos de cáncer y desórdenes inmunes como el asma, en la población mundial.

Se ha encontrado que los macrófagos derivados de la médula ósea se encuentran en el tejido adiposo blanco y correlacionan directamente con la obesidad. Por esto, Tilg H. en su trabajo de 2006, cita al tejido adiposo como un factor importante en la regulación de muchos procesos patológicos. Habiéndose caracterizado diversos productos secretados por este, como las adipocitocinas, dentro de las que la adiponectina, leptina, resistina y visfatina, establecen vínculos entre obesidad, resistencia a la insulina, desordenes inflamatorios y cardiovasculares.<sup>7</sup>

Así mismo muchos estudios han demostrado, que la obesidad incrementa la mortalidad por muchas causas, principalmente el daño cardiovascular producido por efecto del exceso de tejido adiposo, generando procesos ateroscleróticos en grandes vasos.<sup>8</sup>

Como ha sido explicado por Elbatarny H.S. y col. en 2007, la concentración de adipocitocinas decrece con la obesidad. Cada una ellas, tienen pronunciados efectos sobre tejidos periféricos y una función en la obesidad, ligada al aumento de enfermedades cardiovasculares. Los niveles de adiponectina circulante o de grelina alterados, correlacionan con el incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular. La adiponectina antagoniza varios efectos de la leptina, y protege contra la resistencia a la insulina (IR), dislipidemia y aterosclerosis.

Los receptores de estas adipocitocinas, han sido identificados en células del sistema cardiovascular y se ha demostrado, que algunos de ellos pueden regular las funciones de las células del endotelio vascular (VECs), células de músculo liso vascular (VSMCs), cardiomiocitos o plaquetas. Se sabe además, que la interacción entre plaquetas y VECs, es importante en la regulación de la coagulación, fibrinólisis, trombosis y funciones vasculares, y que éstas citocinas pueden influenciar ciertas funciones de las VECs.<sup>9</sup>

Exceso de tejido adiposo en la pared vascular:

Los numerosos mecanismos de daño, por los cuales la obesidad puede afectar adversamente la vasculatura, llevando al aumento de muerte cardiovascular, se pueden observar en la figura 1. La inflamación sistémica y la producción de adipocitocinas por el tejido adiposo, son parte de los mecanismos de los efectos adversos del tejido adiposo en las paredes de los vasos.<sup>8</sup>

Los niveles de ácidos grasos libres (FFA) sirven para predecir la muerte por causas cardiovasculares, después de estabilizar factores como edad, género, índice de masa corporal (BMI), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), evaluación de homeostasis de la resistencia a la insulina, hipertensión arterial (HTA), tabaquismo, proteína C reactiva (CRP) y terapia farmacológica. Los FFA pueden inducir la apoptosis celular endotelial y perjudican la vasodilatación dependiente del endotelio.<sup>9</sup>

La adiponectina de alto peso molecular (AdipoHMW) y el colesterol con lipoproteínas de alta densidad (C-HDL), correlacionan inversamente con los niveles de TG, IR y factores inflamatorios circulatorios. Se ha visto progresión de enfermedad de arteria coronaria (CAD)

---

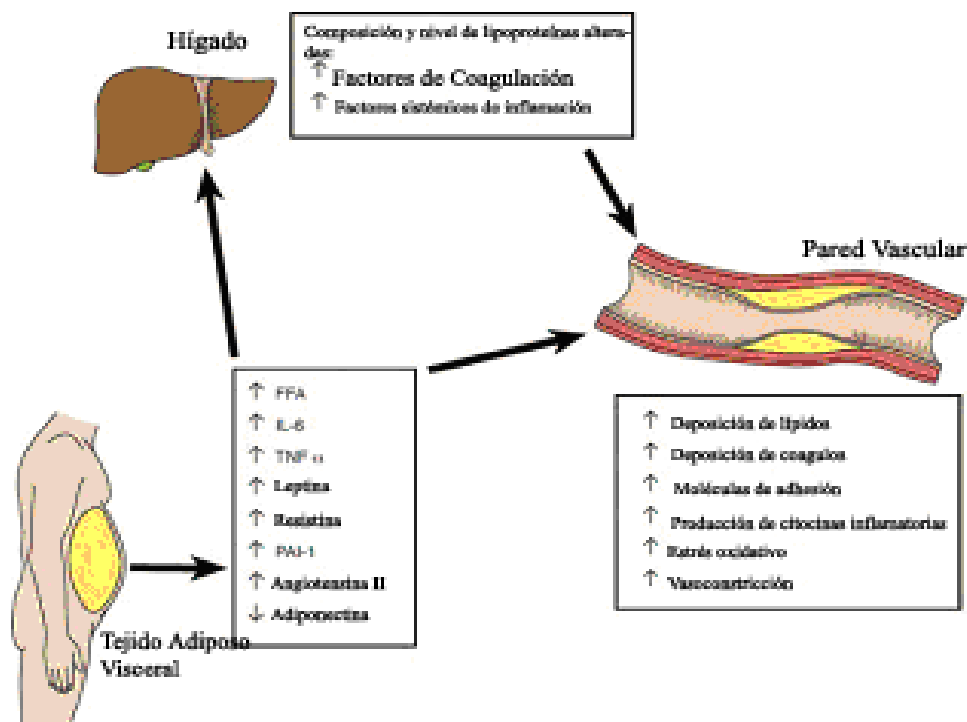
<sup>7</sup> Tilg H. y Moschen A.R. *Nature*. 2006; v.6, p.772-83.

<sup>8</sup> Fantuzzi G. y Mazzone T. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; v.27, p.996-1003.

<sup>9</sup> Elbatarny H.S. y col. *Eur. J. Pharmacol.* 2007; v.558, p.7-13.

en sujetos diabéticos y no diabéticos, que correlaciona inversamente con los niveles de adiponectina. Así, esta citocina resulta ser el mejor predictor del daño de la pared de la arteria carótida en pacientes con DM2, tras el tratamiento con sensibilizantes a la insulina. También es claro, que mutaciones del gen de adiponectina, están fuertemente asociadas con el desarrollo de intolerancia a la glucosa, DM y CAD en humanos.

La adiponectina promueve acciones de expresión genética anti-aterotogénica y anti-inflamatoria, con función en células de la paredes vasculares. Modifica la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales, a través de la inhibición de la activación del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B). También, reduce el estrés oxidativo endotelial y su proliferación, mientras estimula la actividad del óxido nítrico sintasa.<sup>10</sup>



**Figura 1.** Productos derivados del tejido adiposo trabajan en las paredes vasculares y a través del hígado, para modular el ambiente aterogénico. En la obesidad, la producción de metabolitos, citocinas y hormonas por el tejido adiposo está alterada. En el tejido adiposo visceral, estos factores tienen acceso al hígado favorecido a través de la circulación portal. En el hígado los factores derivados del tejido adiposo, influyen en la composición y nivel de lipoproteínas circulantes, y los niveles sistémicos de componentes inflamatorios y del sistema de coagulación. Los factores derivados del tejido adiposo también pueden regular la expresión de genes y función endotelial, de músculo liso arterial y células macrófago en las paredes vasculares. (FFA: ácidos grasos libres; TNF: factor de necrosis tumoral; PAI: inhibidor del activador del plasminógeno). (Reproducción de <sup>11</sup>)

De acuerdo con investigaciones recientes, la CRP puede también producirse en tejido adiposo y está relacionada con el desarrollo de aterogénesis de las paredes vasculares.

Angiotensinógeno, enzima convertidor de angiotensina (ECA) e inhibidor 1 del activador del plasminógeno (PAI-1), son producidos también por el tejido adiposo, siendo sus niveles incrementados en la obesidad. La angiotensina II produce vasoconstricción, pudiendo también promover inflamación sistémica, y donde el PAI-1 puede generar aterotrombosis.<sup>11</sup>

<sup>10</sup> Elbatarny H.S. y col. *Eur. J. Pharmacol.* 2007; v.558, p.7-13.

<sup>11</sup> Fantuzzi G. y Mazzone T. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; v.27, p.996-1003.

Diferencias en el riesgo ateroesclerótico basado en la distribución de tejido adiposo:

El depósito de adipocitos a nivel central (grasa en el tronco y/o abdomen), confiere mayor riesgo cardiovascular que los adipocitos periféricos (presentes en cadera y muslos). Las masas de grasa periférica, tienen un efecto independiente y dominante antiaterogénico en mujeres mayores. La grasa central, fue asociada directamente con el endurecimiento de las arterias carótida y femoral, mientras la grasa periférica estuvo inversamente relacionada con el endurecimiento de segmentos braquial y carótido-femoral. También se mostró que la enfermedad de arteria coronaria, está significativamente correlacionada con el tejido adiposo visceral.<sup>12</sup>

De acuerdo con Tilg H. y Moschen, biomarcadores de la inflamación en concentraciones aumentadas como el TNF- $\alpha$ , IL-6 y CRP, se presentan en individuos con obesidad y resistencia a la insulina, lo cual puede predecir el desarrollo de DM2 y enfermedad cardiovascular. Hotamisligil y col. en 1993, describieron que los adipocitos expresan directamente TNF- $\alpha$ , lo cual implica inflamación en la obesidad. Igualmente que individuos obesos, que redujeron de peso, redujeron la expresión del TNF- $\alpha$  en tejido adiposo.<sup>13,14</sup>

## ADIPONECTINA

La adiponectina también conocida como adipoQ, proteína plasmática de aproximadamente 30 kD, inicialmente conocida como el complemento en los adipocitos (ACRP30) y la proteína 28 de unión gelatina (GBP28), son la misma proteína.

Se reconoció que su alta concentración plasmática ( $\approx$  de 5 a 30  $\mu\text{g/mL}$ ), representa cerca del 0.01% de las proteínas plasmáticas totales, sugiriendo que debía tener acciones más allá de las locales. Una vez identificada la adiponectina, también lo fueron sus receptores (adipoR1 y adipoR2) en hígado y músculo esquelético, donde mostraron efectos directos sobre la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, ni la función fisiológica de la adiponectina, ni la vía de señalización de transducción han sido totalmente elucidadas.<sup>15,16,17,18</sup>

La inhibición de la expresión de los receptores adipoR1 y R2, está acompañada de una disminución de los efectos de la adiponectina, sobre la activación del Receptor de Peroxisomas Activados por Proliferadores tipo  $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ), la oxidación de ácidos grasos y la utilización de la glucosa, sugiriendo que estos receptores podrían ser los mediadores de la acción de la adiponectina. Parece ser que existe una relación entre la sensibilidad a la insulina y la expresión de los receptores de adiponectina.<sup>19</sup>

Las evaluaciones de Doria en 2003, mediante estudios en chimpancé definieron la hipoadiponectinemia, como un defecto genéticamente determinado, que contribuye a la etiología de la obesidad y la resistencia a la insulina, pero independiente del peso corporal o los niveles de insulina. Caracterizó la adiponectina en el hombre como una proteína de 244 aminoácidos, estructuralmente similar al colágeno, homóloga con el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  y en un 43%, con la proteína de complemento C1q, y determinando que sus niveles están inversamente relacionados con el área de grasa corporal, por lo que, bajos niveles de ella

<sup>12</sup> Fantuzzi G. y Mazzone T. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; v.27, p.996-1003.

<sup>13</sup> Tilg H., Moschen A.R. *Nature.* 2006; v.6, p.772-83.

<sup>14</sup> Hotamisligil y col. *Science.* 1993; v.259, p.87-91.

<sup>15</sup> Bodary F.B., Eitzman D.T. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.235-6

<sup>16</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

<sup>17</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis.* 2005; suppl.6, p.7-14.

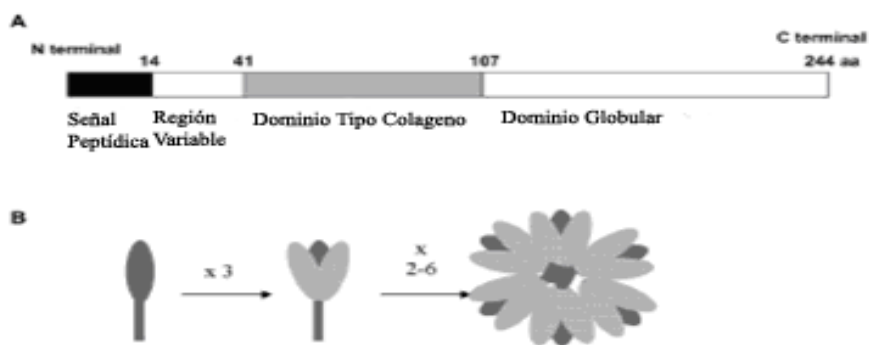
<sup>18</sup> Vasseur F. *Pharmacological Research.* 2006; v.53, p.478-81.

<sup>19</sup> Kim M.J., Maachi M., Capeau J., Bastard J.P. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.* 2006; v. 21, p.1-7.

han sido asociados con la obesidad, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares.<sup>20</sup>

La proteína está compuesta por tres dominios: uno que señala la secuencia a partir del nitrógeno terminal. Un segundo, fibroso similar al colágeno y un dominio globular, similar a la proteína del complemento (C1q), cerca del carbono terminal. (Figura 2).<sup>21,22,23</sup>

Estos tres dominios se entrelazan para formar una triple hélice de colágeno, pudiendo reunirse de dos a seis trímeros de estos, que multimerizan formando oligómeros a través de puentes disulfuro. En la circulación, la adiponectina existe en por lo menos dos formas: una como hexámero (dos trímeros) llamado oligómero de bajo peso molecular, que es la forma predominante de la adiponectina en la circulación, y como oligómeros de alto peso molecular, consistentes de cuatro a seis trímeros, que constituyen la adiponectina intracelular. Sin embargo, ha sido establecido que el complejo de adiponectina de alto peso molecular, es la forma activa de esta proteína, que regula la sensibilidad a la insulina.<sup>24</sup>



**Figura 2.** Estructura primaria (A) y diversas formas circulares (B) de la adiponectina. (Reproducción de <sup>23</sup>)

La adiponectina puede sufrir una ruptura proteolítica, dando lugar a una forma globular de adiponectina, conteniendo únicamente la cabeza del dominio globular, cuyo efecto farmacológico parece ser la estimulación de la  $\beta$  oxidación de ácidos grasos en músculo esquelético, mientras la adiponectina total disminuye la producción de glucosa hepática, teniendo cada una de las formas de la adiponectina un sitio y modo de acción diferentes.

El gen de la adiponectina, también posee el locus para otros genes posiblemente relacionados con fenotipos de las características del síndrome metabólico, resistencia a la insulina, obesidad, hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2.<sup>23,25,26</sup>

En contraste con las proteínas producidas por el tejido adiposo, los niveles de adiponectina son más bajos en sujetos obesos que en individuos delgados, mostrándose una correlación inversa entre el nivel plasmático de adiponectina y el índice de masa corporal, tanto en humanos como en animales. Los niveles del gen de expresión de adiponectina, son más altos en el tejido adiposo subcutáneo que en el intraabdominal. De acuerdo con esto se considera que, debido a que la acumulación de tejido adiposo en mujeres se da principalmente en la

<sup>20</sup> Doria A. *International Congress Series*. 2003; v.1253, p. 63–71.

<sup>21</sup> Lihn A.S. y col. *Obesity Reviews*. 2005; v.6, p.13-21.

<sup>22</sup> Bodary F.B., Eitzman D.T. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.235-6.

<sup>23</sup> Matsuzawa Y. *Adiponectin Atherosclerosis*. 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>24</sup> Maeda N.y col. *Nature Medicine*. 2002;v.8, n.7, p.731-7.

<sup>25</sup> Kim M.J. y col. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. 2006; v. 21, p1-7.

<sup>26</sup> Comuzzie A.G. y col. *J Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; v.86, p.4321–5

región gluteofemoral, posee un efecto protector especialmente contra el riesgo de enfermedad cardiovascular.<sup>27</sup>

Se plantea que la mayor función fisiológica de la adiponectina endógena, es como adaptador de la alteración metabólica de larga duración, mientras el incremento del balance energético y de la masa grasa, suprime el nivel de adiponectina.<sup>28</sup>

Se ha sugerido un modo de acción central de la adiponectina, ya que activa la enzima proteínquinasa dependiente de AMP (AMPK), que está envuelta en la regulación hipotalámica del comportamiento alimentario, modulando la vía de la AMPK. Por tanto la adiponectina puede comportarse como una citosina sensibilizante a la insulina<sup>29</sup>, antiaterotogénica<sup>30</sup>, antiinflamatoria<sup>31</sup>, antiangiogénica, y antitumoral<sup>32</sup> con acciones tanto periféricas como centrales.<sup>33</sup>

De acuerdo con las Figuras 3 y 4, se comprueba la existencia de dos tipos de receptores de la adiponectina: el receptor 1 (adipoR1), expresado ampliamente en músculo esquelético, gozando de ubicuidad en el organismo y el receptor 2 (adipoR2), el cual se expresa más abundantemente en el hígado, aunque también está presente en otros tejidos.

Uno de los mayores efectos de la señalización de la adiponectina se da en células endoteliales, con la activación de la AMPK.<sup>34</sup>

Las acciones de la adiponectina dependientes de la activación del AMPK son:

1. La AMPK activa la vía de la óxido nítrico sintasa endotelial (NOS<sub>e</sub>) y el Akt, contribuyendo a los efectos de la adiponectina en la angiogénesis. La adiponectina también inhibe la producción de superóxido y especies reactivas de oxígeno (ROS), inducida por las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL-ox), posiblemente a través de la inhibición de la actividad de la NADPH oxidasa celular. Por efecto de la adiponectina, la disminución de ROS puede aumentar la producción de NO y reducir la proliferación celular, reduciendo la inhibición de la actividad de la NOS<sub>e</sub> y del NO, producida por las ROS y por el bloqueo de la activación de la proteínquinasa activada por mitógenos (MAPK) inducida por las LDL-ox.<sup>34</sup>
2. Produce actividad estimulante de la tirosinquinasa, la cual, sin conectarse directamente a receptores de la insulina, promueve la fosforilación del sustrato receptor de la insulina 1 y 2 (IRS-1 y 2), activa la síntesis de glucógeno a través de varias señales intracelulares y aumenta la fosforilación y actividad de la AMPK. Este enzima, aumenta simultáneamente la captación de glucosa en miocitos e hígado y la oxidación de FFA, y regula directamente el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina, según ha sido descrito por Koshihara K. y col. en 2006.<sup>35</sup>
3. La activación de la AMPK, media la oxidación de ácidos grasos y la síntesis neta de ATP. La activación farmacológica de la AMPK, también reduce la incrementada apoptosis de células endoteliales expuestas a altos niveles de glucosa, sugiriendo que la AMPK media el crecimiento y diferenciación celular.<sup>35</sup>

<sup>27</sup> Comuzzie A.G. y col. *J Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; v.86, p.4321-5

<sup>28</sup> Kim M.J. y col. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.* 2006; v. 21, p1-7.

<sup>29</sup> Hotta K. y col. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2000; v.20, p.1595-9.

<sup>30</sup> Yamauchi T. y col. *J. Biol. Chem.* 2003; v. 278, n. 4, p. 2461-8

<sup>31</sup> Ouchi N. y col. *Circulation.* 2003; v.107, p.671-4.

<sup>32</sup> Bräkenhielm E. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004; v.101, p.2476-81.

<sup>33</sup> Vasseur F. *Pharmacological Research.* 2006; v.53, p.478-81.

<sup>34</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

<sup>35</sup> Arita Y. y col. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1999; v.257, p.79-83.

4. La AMPK es un regulador clave del metabolismo energético del corazón. La alta demanda energética es satisfecha primeramente por el metabolismo de ácidos grasos y glucosa. La AMPK no activa únicamente vías metabólicas productoras de energía, sino además inhibe vías consumidoras de ella. Su función es un determinante energético en caso de isquemia cardiaca o hipoxia. La Regulación hormonal de la AMPK, envuelve el control de su fosforilación, proceso en el cual se ha mostrado interviene la adiponectina en corazón. En contraste, la insulina inhibe la actividad de la AMPK cardiaca y su fosforilación, situación que parece ser mediada por el Akt.<sup>36,37</sup> En un corazón normal, entre el 40 y 90% del ATP es derivado de la oxidación de ácidos grasos. La carnitina palmitoiltransferasa (CPT-1), es la enzima clave para el transporte de ácidos grasos en la mitocondria, la cual se localiza en el exterior de la membrana mitocondrial. Ésta enzima es inhibido por la malonil CoA, que es regulado y controlado de acuerdo con la síntesis y degradación de AMPK, cuya actividad regula la fosforilación de las enzimas que controlan los niveles de la malonil CoA (acetil CoA carboxilasa y malonil CoA decarboxilasa). Existen diversas enzimas encargadas de la captación, almacenamiento, movilización y metabolismo de la glucosa, y varias de ellas claves en las vías metabólicas glucosa/glicógeno, tienen el proceso de fosforilación/defosforilación bajo control de la AMPK.<sup>37</sup>
5. Activación de la AMPK durante la reperfusión isquémica:  
La isquemia de miocardio es un problema de salud de la sociedad actual, producto de la reducción del metabolismo oxidativo mitocondrial y de la producción de ATP. Durante moderada isquemia como en la angina pectoris, el suministro de energía a partir del metabolismo de la glucosa y la oxidación mitocondrial de ácidos grasos, no abastece la demanda, y acelera la glicólisis para compensar la reducción del suministro de ATP mitocondrial. Pero durante la isquemia severa, como en el infarto de miocardio o la cirugía cardiaca, decrece igualmente el metabolismo oxidativo, convirtiendo la glicólisis en la principal fuente de ATP, llevando a la reducción de la función y la eficiencia cardiaca. En la reversibilidad del daño isquémico de miocardio, la reperfusión recobrará la función contráctil, una vez la producción de energía sea restaurada. Sin embargo, la oxidación de ácidos grasos puede ser acelerada durante la reperfusión, originando más del 95% del ATP desde la acetil CoA derivada de ácidos grasos. La alta oxidación de ácidos grasos después de la isquemia, se debe al aumento de los niveles de ácidos grasos circulantes ocasionado por la isquemia, y a alteraciones directas en el control subcelular de la oxidación de ácidos grasos. Esto además, inhibe las vías de oxidación de la glucosa.<sup>38</sup>

## MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA ADIPONECTINA

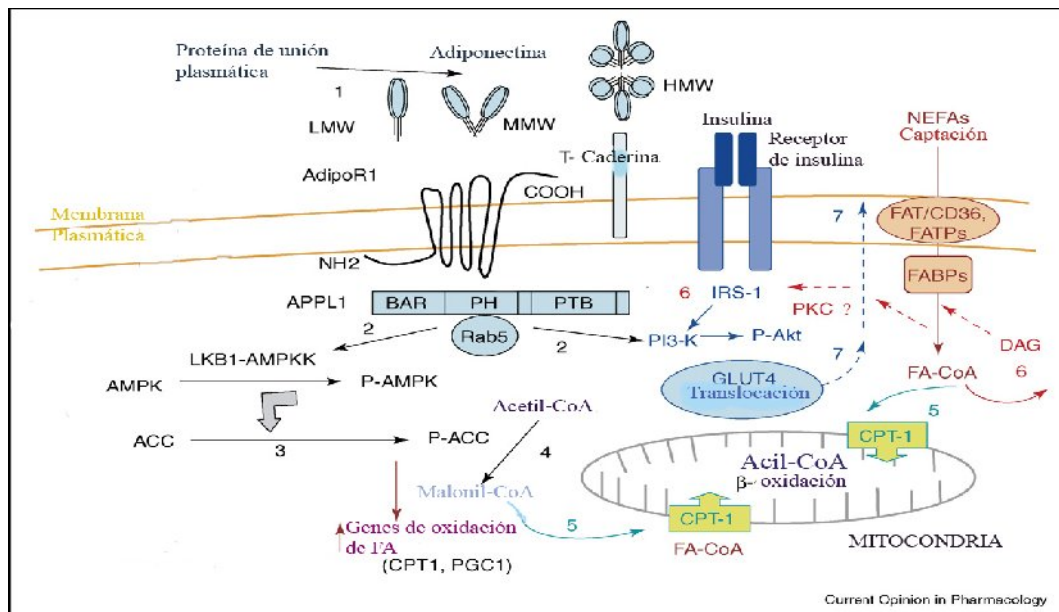
Como se muestra en las Figuras 4, 5 y 6, la adiponectina está interrelacionada con diferentes vías de señalización, sin que hayan sido totalmente elucidadas, pero que muestran incidencia sobre órganos blanco como hígado, músculo, cerebro y endotelio vascular principalmente. Sistemas adicionales de señalización han sido implicados en por lo menos algunos de los efectos endoteliales de la adiponectina. La inhibición que produce sobre la señalización del TNF- $\alpha$ , por ejemplo en células del endotelio, está acompañada por acumulación de AMPc y es bloqueada por inhibidores de la adenilatociclasa o de la proteincinasa A (PKA), lo que sugiere que la adiponectina puede modular la señalización inflamatoria, en el cruce de las vías

<sup>36</sup> Kovacic S. y col. *J. Biol. Chem.* 2003; v.278, p.39422-7.

<sup>37</sup> Dyck J.R.B., LopaschuK G.D. *J. Physiol.* 2006; v.574, n.1, p.95-112.

<sup>38</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

AMPC-PKA y del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) (Fig. 8). Mientras las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL-ox), inducen la generación de superóxido en células endoteliales, vinculada a la vía de la NADPH-oxidasa, que puede ser suprimido por el dominio globular de la adiponectina.<sup>39</sup>



**Figura 3.** Esquema de señalización y efectos de la adiponectina, en el metabolismo de los ácidos grasos y de la glucosa, mediados por la AMPK en músculo esquelético. 1) La adiponectina circula en plasma en diferentes isoformas asociadas con glicoproteínas plasmáticas como complejos de alto peso molecular (HMW). 2) Cuando la adiponectina se une a su receptor AdipoR1, es iniciada la fosforilación de la AMPK. La unión de formas globulares de bajo y mediano peso molecular (LMW/MMW) a AdipoR1, promueve la interacción del receptor con la proteína de adaptación APPL1, el cual es un pequeño efector GTPasa. La AMPK es activada por el aumento de la relación de 50-AMP/ATP. Además, la activación de la translocación del GLUT-4 por la APPL1-Rab5, puede ser una vía parcialmente responsable por la recuperación de la sensibilidad a la insulina mediada por adiponectina. La adiponectina de HMW se une a la T-caderina, pero su vía intracelular de señalización no ha sido elucidada. La activación de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) p38 y el PPAR- $\alpha$ , no es mostrada en el diagrama. 3) La fosforilación y activación de la AMPK, en su momento, fosforila e inhibe la acil-CoA carboxilasa (ACC). 4) La inhibición de la ACC promueve la reducción de la formación de malonil-CoA, un inhibidor fisiológico de la captación de acil-CoA de cadena larga, por la carnitina palmitoiltransferasa (CPT1). 5) La desinhibición de la CPT1 ocasiona la entrada de acil-CoA de cadena larga a la mitocondria para su  $\beta$ -oxidación, proceso que restaura el balance energético. 6) En condiciones de hipoadiponectinemia, se incrementa la captación y acumulación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en células musculares, y acumulación de especies lipídicas intermediarias tóxicas (diacilglicerol DAG). El DAG activa la PKC $\alpha$ , una serina cinasa que promueve la fosforilación de la serina del sustrato del receptor de insulina (IRS-1), alterando la señalización de la insulina (fosfatidil inositol 3 cinasa (PI3K) reducido, refuerzo y activación de la PKB/Akt y translocación del GLUT-4). Por el contrario, la  $\beta$ -oxidación mitocondrial incrementada reduce la formación de DAG, a partir de la acil-CoA grasa de cadena larga. El IRS-1 fosforilado en el residuo de tirosina, refuerza y activa la PI3K y la PKB/Akt, llevando a la translocación del GLUT-4 desde el depósito intracelular a la membrana plasmática. Así, el efecto de la insulina es reducido cuando el IRS-1 es fosforilado en un residuo de serina, lo que explica parcialmente la resistencia a la insulina. (Reproducción de<sup>40</sup>)

## OTROS COMPONENTES DE LA ACCIÓN DE LA ADIPONECTINA

El adipoR1 es un receptor con alta afinidad por la adiponectina globular y con baja afinidad por la adiponectina total, que incrementa la captación de glucosa y la oxidación de ácidos

<sup>39</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

<sup>40</sup> Lafontan M., Viguierie N. *Current Opinion in Pharmacology.* 2006; v.6, p.580-5.

grasos, interviniendo en la modulación de la trigliceridemia y sin influencia considerable, en la insulinemia. En cuanto al adipoR2, es un receptor con afinidad media por la adiponectina total y la globular, que promueve la oxidación de ácidos grasos libres, captación de glucosa y una baja gluconeogénesis.<sup>41,42,43</sup>

También se ha mostrado que la adiponectina de alto peso molecular y sus hexámeros, pueden activar la vía del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B).<sup>42</sup>

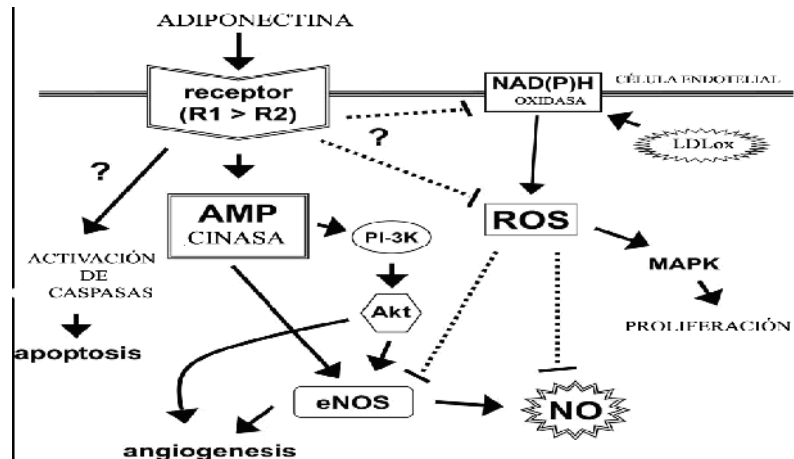


Figura 4. Mecanismos y Vías de Señalización Celular para la adiponectina. (Reproducción de<sup>44</sup>)

Es bien conocido el efecto exocrino de la adiponectina, y se ha descrito que su acción autocrina inhibe la secreción en el adipocito, de citocinas que inducen resistencia a la insulina (TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP). Al mismo tiempo con su acción exocrina sensibilizante a la insulina, los efectos autocrinos de la adiponectina pueden explicar la acción antidiabética de esta citocina, al prevenir la inducción de resistencia a la insulina en el músculo esquelético.<sup>45,46</sup>

#### ADIPONECTINA COMO MARCADOR DE ENFERMEDAD

La hipoadiponectinemia, está asociado con muchas condiciones patológicas:

##### Obesidad

Se ha demostrado, que la transcripción de la adiponectina en líneas celulares de adipocitos, es suprimida por el TNF- $\alpha$  en individuos obesos, igualmente la expresión es también suprimida, por otros mediadores proinflamatorios, como IL-6. Muchos factores afectan los niveles circulantes de adiponectina, como el género, edad y estilo de vida.<sup>47</sup>

Las investigaciones sobre niveles plasmáticos de adiponectina en sujetos obesos, han encontrado reducidos niveles (3.7  $\mu$ g/mL) frente a los encontrados en sujetos no obesos (8.9  $\mu$ g/mL).

Los niveles de adiponectina han sido asociados con la acumulación de grasa visceral, pero no está claro el mecanismo por el cual esta grasa reduce los niveles de adiponectina.<sup>48,49</sup>

<sup>41</sup> Lihn A.S. y col. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2004; v.219, p.9–15.

<sup>42</sup> Vasseur F. *Pharmacological Research*. 2006; v.53, p.478-81.

<sup>43</sup> Xu B. y col. *J. Hypertens*. 2006; v.24, p.915–22.

<sup>44</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

<sup>45</sup> Kovacic S. y col. *J. Biol. Chem*. 2003; v.278, p.39422-7.

<sup>46</sup> Dietze-Schroeder D. y col. *Diabetes* 2005; v.54, p.2003–11.

<sup>47</sup> Tilg H. y Moschen A.R. *Nature*. 2006; v.6, p.772-83.

<sup>48</sup> Arita Y. y col. *Biochem. Biophys. Res. Comm*. 1999; v.257, p.79–83.

<sup>49</sup> Phillips S.A. y col. *Diabetes*. 2003; v.52, p.667–74.

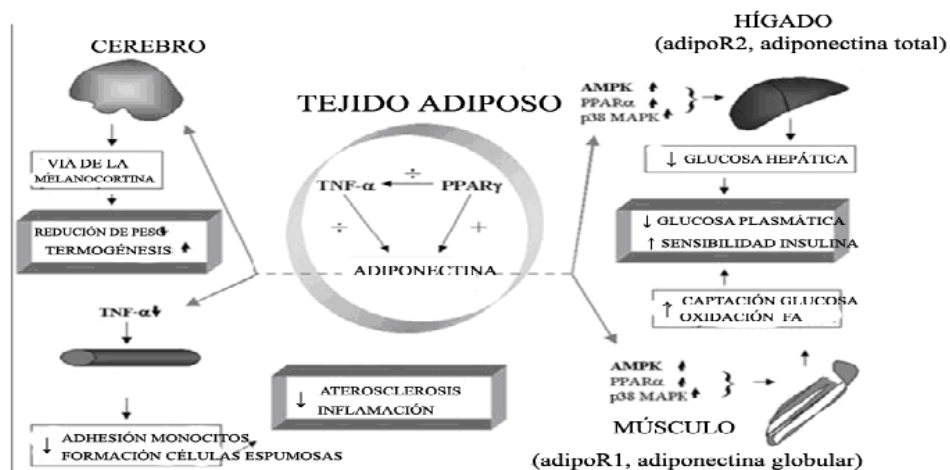


## Enfermedad Cardiovascular

El crecimiento epidémico de las enfermedades cardiovasculares en países desarrollados y tercer mundistas, está asociado con la incrementada prevalencia de la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2, debidas a excesos de peso corporal y estilos de vida sedentaria. La resistencia a la insulina juega una función determinante en el desarrollo de factores de riesgo (síndrome metabólico, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, hipertensión y dislipidemia), que elevan dramáticamente el riesgo cardiovascular.<sup>50</sup>

## Disfunción vascular

Un estudio en diabéticos tipo 2, estableció una correlación entre los niveles de adiponectina y la función endotelial, mostrando que los pacientes diabéticos presentan bajo nivel plasmático de adiponectina, perjudicando la vasodilatación tanto endotelio dependiente como endotelio independiente, en contraste con lo observado en individuos control y que como ya se sabe, esto está relacionado con la producción endotelial de NO.<sup>51,52</sup>



**Figura 5.** Ilustración de tejidos objetivo de la adiponectina, posible modo de acción y regulación. (Reproducción de<sup>53</sup>)

Trabajando con modelos animales de ratón knockout carentes de adiponectina, se encontró sorprendentes alteraciones vasculares, incluyendo complicaciones de la neointima e incrementada proliferación de células de músculo liso vascular en células de arterias mecánicamente afectadas. La adiponectina asociada con células espumosas en lesiones de tejido graso, suprime la expresión de moléculas 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1) y puede reducir los niveles de TNF- $\alpha$ .<sup>50</sup>

En células endoteliales de aorta, se ha visto que expresan los receptores de adiponectina, y que en respuesta a ella aumenta la producción de óxido nítrico (NO) y/o reduce los niveles de

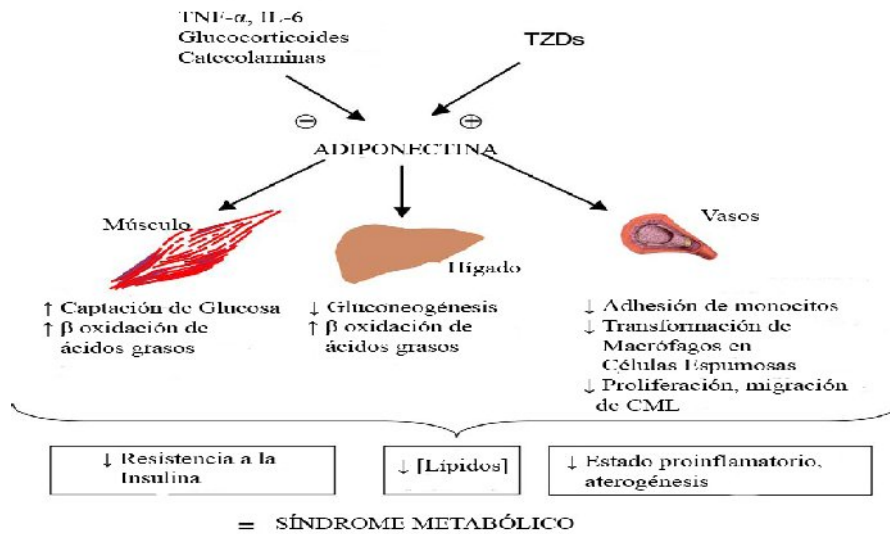
<sup>50</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

<sup>51</sup> Shimabukuro M. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; v.88, p.3236-40.

<sup>52</sup> Tan K.C.B. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, p.765-9.

<sup>53</sup> Lihn A.S. y col. *Obesity Reviews.* 2005; v.6, p.13-21.

lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL-ox), inducidas por supresión de la actividad del NOSe.<sup>54,55</sup>



**Figura 6.** Efectos antiinflamatorios y antiaterogénicos de la adiponectina (Reproducción de <sup>56</sup>)

Ha sido comentado, el desarrollo de intensa hiperplasia de neointima, en ratones deficientes en adiponectina, protegiendo del desarrollo de aterosclerosis, lo anterior sugiere la regulación de la expresión del NOSe.<sup>57</sup>

Tan y col. en 2004, también establecieron una relación entre adiponectina y la vasodilatación endotelio dependiente (EDV - marcador clínico de la función endotelial), tanto en individuos sanos como en diabéticos.<sup>60</sup>

Al parecer la adipoHMW, tiene gran relación con la incidencia de enfermedad de arteria coronaria (CAD), la sensibilidad a la insulina tras la administración de tiazolidinonas y se considera el único isómero que suprime la apoptosis de células endoteliales.<sup>58</sup>

#### Enfermedad vascular periférica

Una de las principales patologías de esta clase y reflejo de su problemática, es la aterosclerosis obliterante, principal causa de la enfermedad arterial oclusiva, que suele acontecer en edades mayores a 40 años hacia la sexta y séptima décadas de vida. Hoy en día, hay una incrementada prevalencia de la enfermedad aterosclerótica periférica, en pacientes con diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensión o hiperhomocisteinemia.

La patología muestra esteatosis u oclusión causantes de lesiones segmentarias, causadas en vasos de mediano y gran tamaño. La patología de lesión de la placa aterosclerótica, incluye depósitos de calcio, adelgazamiento de la íntima media, destrucción irregular de músculo y fibras elásticas, fragmentación de la lámina elástica interna y agregación plaqueteria con trombina y fibrina.<sup>59,60</sup>

Iwashima Y. y col. en 2006 Halperin y col. en 2005, determinaron que la adiponectina puede servir como marcador de la existencia y evolución de la aterosclerosis en la enfermedad

<sup>54</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis*. 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>55</sup> Vasseur F. *Pharmacological Research*. 2006; v.53, p.478-81.

<sup>56</sup> Kim M.J. y col. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. 2006; v. 21, p1-7.

<sup>57</sup> Halperin F. y col. *Diabetes*. 2005; v.48, p.2147-54.

<sup>58</sup> Vásquez A.V. y col. *Rev. Cubana Farm.* 1998; v.32, n.3, p.204-10.

<sup>59</sup> Braunwald E., y col. *HARRISON'S Principles of Internal Medicine*. 2001, 15<sup>th</sup> Edt., Vol. 1, p.1434-5. Mc Graw Hill.

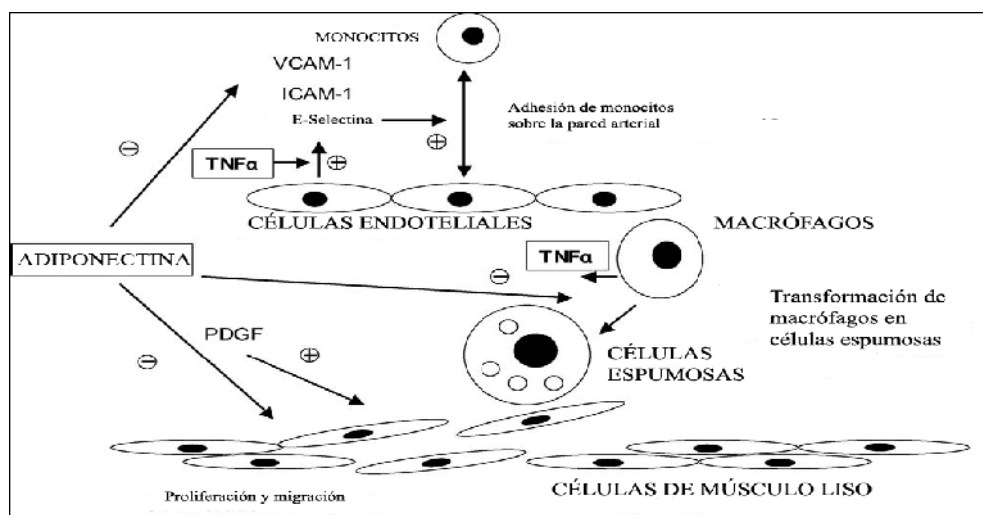
<sup>60</sup> Tan K.C.B. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, p.765-9. Vásquez A.V. y col. *Rev. Cubana Farm.* 1998; v.32, n.3, p.204-10.

arterial periférica oclusiva (PAOD) y sirviendo como factor de temprana evaluación aterosclerótica y marcador bioquímico de la patología.<sup>61</sup>

Marquina A.R y col. en 2003, explican que las complicaciones crónicas de los pacientes con DM2, son resultado de trastornos metabólicos en las paredes vasculares, con reducción del espacio intraluminal de los vasos, afectando diversos órganos entre ellos las extremidades inferiores, generando enfermedad vascular periférica (PVD). Lesiones vasculares en vénulas y capilares (microangiopatía), y en arterias de mediano calibre (macroangiopatía), deterioran la circulación general, afectando las extremidades con neuropatía diabética.<sup>62</sup>

### Inflamación y aterosclerosis

Según la publicación en 2005 de Kougas P. y col., la adiponectina inhibe la expresión de moléculas de adhesión e interfiere con la adherencia de monocitos a células endoteliales, evento inicial del proceso de aterosclerosis. También inhibe la transformación de macrófagos en células espumosas *in vitro* y reduce su actividad fagocítica.<sup>63,64</sup>



**Figura 7.** Efectos antiaterogénicos de la adiponectina y efecto de otras adipocinas. (Reproducción de<sup>65</sup>)

La adiponectina tiene un papel crucial en la supresión de la actividad de macrófagos no solamente en tejido adiposo, sino en otros como el hígado. Síntesis reducida de adiponectina, como la observada en individuos obesos, puede llevar a la falta de control sobre los factores que inhiben la producción de citocinas proinflamatorias, llevando además a la producción incrementada de mediadores proinflamatorios.<sup>66</sup>

Se ha observado que, ratones deficientes de adiponectina, presentan un intenso desarrollo de la neointima y proliferación de células de músculo liso vascular, en arterias mecánicamente dañadas. También se ha demostrado que la adiponectina inhibe la oxidación de LDL, inducida por proliferación celular y suprime la generación celular de superóxido.

Según Dieplinger B. y col. en 2006, la adiponectina tiene un potencial efecto inhibitorio, sobre varios mecanismos moleculares de aterosclerosis, como la adhesión de células

<sup>61</sup> Iwashima Y. *Atherosclerosis*. 2006; v.188, p.384-90.

<sup>62</sup> Marquina A.R. y col. *Rev. Fac. Med. UNAM*. 2003; v.46, p.18-21.

<sup>63</sup> Kougas P. *J. Surg. Res*. 2005; v.126, p.121-9.

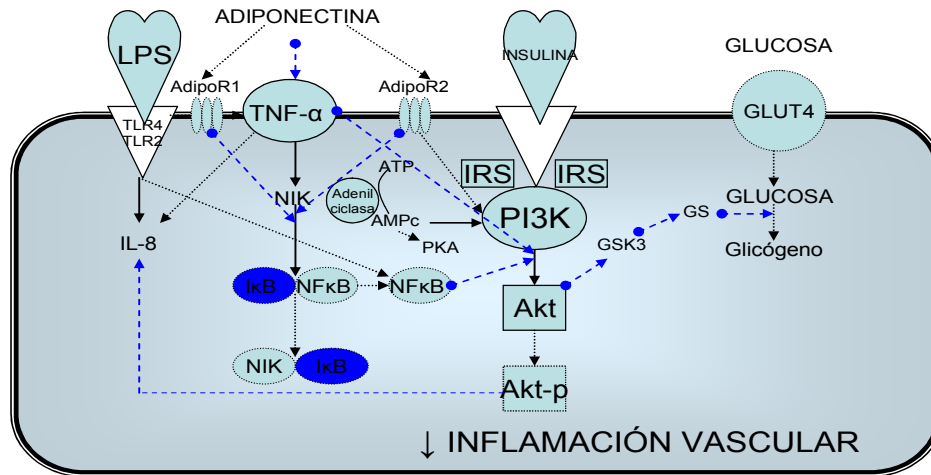
<sup>64</sup> Araki T. y col. *Metab. Clin. Exp*. 2006; v.55, p.996-1001.

<sup>65</sup> Kim M.J. y col. *Inmuno-analyse & Biologie spécialisée*. 2006; v. 21, p1-7.

<sup>66</sup> Tilg H., Moschen A.R. *Nature*. 2006; v. 6, p.772-83.

monocíticas a las células endoteliales, la formación de células espumosas a partir de los macrófagos y la migración y proliferación de células de músculo liso.<sup>67,68</sup>

Kato H. y col. 2006, describen que la interacción de la placa aterosclerótica vulnerable y la formación de trombos, es la piedra angular del síndrome coronario agudo (ACS), y sugiere que la hipoadiponectinemia contribuye directamente al desarrollo de este.<sup>68</sup>



**Figura 8.** Posible mecanismo molecular de la adiponectina, para reducir los efectos inflamatorios de las citocinas IL-8 y TNF- $\alpha$ , a través del estímulo de la proteínacinas inductoras del NF $\kappa$ B (NIK). El NF $\kappa$ B estimula la expresión de la IL-8, y la adiponectina inhibe la fosforilación y degradación del I $\kappa$ B dependiente del TNF- $\alpha$ . Esta inhibición ocurre a través de la vía de la proteínacinas A dependiente de cAMP (cAMP-PKA). La adiponectina puede también inhibir la IL-8, estimulando la fosforilación y activación de la Akt. Estos mecanismos de actividad transmembrana de la adiponectina, aún no están aclarados por carecerse del conocimiento de donde son funcionalmente activos los receptores AdipoRI y AdipoRII. (flechas discontinuas y ovalos azules: efecto de inhibición,  $\rightarrow$ : efecto de estimulación, p: estado fosforilado).

Según explicó Kotani K. y col. en 2005, la diabetes acelera los cambios ateróticos (estructurales) y escleróticos (funcionales), mientras la hiperlipidemia y/o la obesidad causan principalmente cambios ateróticos. También se ha visto que la DM2 acelera la aterosclerosis, más que la hipercolesterolemia, sugiriendo que el engrosamiento de la íntima media carotídea (CIMT) está condicionada al desarrollo de aterosclerosis en la diabetes y correlaciona significativamente con la adiponectina.<sup>69,70</sup>

La adiponectina inhibe la migración y adherencia de monocitos al endotelio, además de la expresión de moléculas de adhesión inducidas por el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), como moléculas 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1), E-selectina y moléculas 1 de adhesión intracelular (ICAM-1), las cuales están implicadas en la fase precoz del desarrollo de la aterosclerosis (Figuras 7 y 9).

De esta forma, la adiponectina puede inhibir la transformación de macrófagos en células espumosas, por inhibición de receptores de LDL-ox, y así, las funciones de fagocitosis y de producción de TNF- $\alpha$  desde los macrófagos maduros.<sup>71,72,73</sup>

<sup>67</sup> Dieplinger B. y col. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2006; v.44, n.7, p.830-3.

<sup>68</sup> Kato H. y col. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.224-30.

<sup>69</sup> Kotani K. y col. *Diabetologia.* 2005; v.48, p.2684-6.

<sup>70</sup> Lo J. y col. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 2006; v.91, p.1677-82.

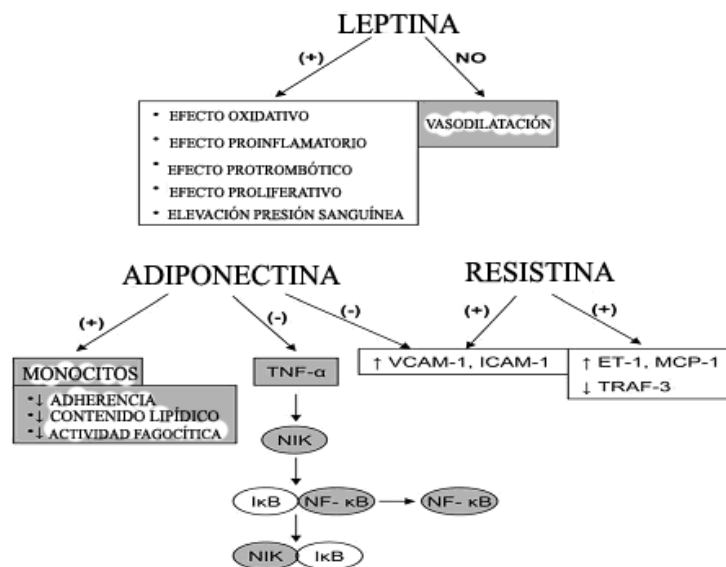
<sup>71</sup> Iwashima Y. y col. *Atherosclerosis.* Aceptado el 25 de Octubre de 2005, en edición.

<sup>72</sup> Kim M.J. y col. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.* 2006; v. 21, p1-7.

<sup>73</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis.* 2005; suppl.6, p.7-14.

Se ha encontrado en humanos, una asociación inversa entre adiponectina y los marcadores inflamatorios TNF- $\alpha$ , interleucina 6 y proteína C reactiva.<sup>74,75,76</sup>

El estudio de Kobashi y col., demostró que la adiponectina atenúa la síntesis de IL-8, inducida por el TNF- $\alpha$ , confirmando la actividad antiinflamatoria de la adiponectina en células endoteliales. Además, se evidenció que el mecanismo seguido, está mediado por la vía dependiente del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B), afectando la vía del proteincinasa A dependiente del AMPc (AMPc-PKA) y la vía del proteinositol 3 cinasa-Akt (PI3K-Akt) (Figura 8). Se ha observado, que la adiponectina incrementa el nivel intracelular de AMPc y PKA activada, conociéndose además que inhibe la vía de señalización endotelial del NF $\kappa$ B a través de la vía dependiente de AMPc-PKA. Este es el mecanismo sugerido para la inhibición de la producción de IL-8 por efecto de la adiponectina, ya que esta activa la vía AMPc-PKA.<sup>74,75</sup>



**Figura 9.** Acción de las hormonas derivadas del adipocito, en la función endotelial y patogénesis de la enfermedad vascular aterosclerótica. La leptina posee propiedades rotrombóticas, proinflamatorias, oxidativas y proliferativas. Esta también eleva la presión sanguínea sistémica, a pesar de una vasodilatación inducida dependiente de NO. La adiponectina regula la función de los monocitos, inhibe el TNF- $\alpha$  dependiente de la regulación del NF- $\kappa$ B, y regula la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 e ICAM-1. La resistina ha mostrado promover la liberación de ET-1, favoreciendo la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1, ICAM-1, MCP-1, TRAF-3, y pentraxin-3. (NF- $\kappa$ B: factor nuclear kappa B; VCAM-1: moléculas 1 de adhesión celular; ICAM-1: moléculas 1 de adhesión intracelular; MCP-1: quimocina 1 quimioatrayente de monocitos; ET-1: endotelina 1; TRAF-3: factor 3 asociado al receptor del TNF) (Reproducción de<sup>76</sup>)

### Cardiopatía coronaria

Se ha descrito que altos niveles de adiponectina son un factor protector del desarrollo de este tipo de patología, cuyo síntoma más frecuente es el dolor torácico, pudiendo verse acompañado de respiración entrecortada, diaforesis, náuseas o vómito, conocida comúnmente como angina de pecho. Su manifestación con largos periodos de permanencia y con lesión irreversible de miocitos, origina ordinariamente el infarto del miocardio.<sup>77,78,79</sup>

<sup>74</sup> Kobashi C. y col. *Circ. Res.* 2005; v.97, p.1245-52.

<sup>75</sup> Fantuzzi G. y Mazzone T. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; v.27, p.996-1003.

<sup>76</sup> Kougias P. *J. Surg. Res.* 2005; v.126, p.121-9.

<sup>77</sup> Copstead L.C., Banasik J.L. (2005) *Pathophysiology* 3ª Edt. Elsevier, St. Louis Missouri, p. 416-25.

<sup>78</sup> Fleming I. *Circ. Res.* 2006; v. 98, p.887-96.

<sup>79</sup> Vásquez A.V. y col. *Rev. Cubana Farm.* 1998; v.32, n.3, p.204-10.

Estudios prospectivos realizados por Fantuzzi G. y col. en 2007 y 2006 de Von Eynatten M. y col. en 2006, hallaron que el efecto cardioprotector de la adiponectina, se asocia con una disminución del riesgo de infarto de miocardio en un 30% y hallaron asociación entre hipoadiponectinemia, incremento de la actividad de la lipasa hepática en humanos, bajo nivel de C-HDL, alto nivel TG, IR e HTA, siendo además característica de pacientes con CHD, lo que califica la adiponectina como predictor y objetivo terapéutico.<sup>80,81</sup>

#### Isquemia coronaria y adiponectina

Los altos niveles de adiponectina en hombres sin previa enfermedad cardiovascular, se relacionan con bajo riesgo cardiovascular, independiente de factores tradicionales, como hipertensión, dislipidemia y diabetes.<sup>82,83</sup>

La concentración plasmática de adiponectina asociada con el desarrollo de síndromes coronarios agudos, frente al de pacientes con angor estable y el grupo control, fueron respectivamente 6.5, 11.3 y 12.8  $\mu\text{g/mL}$ , siendo así la hipoadiponectinemia factor de esta patología según diversos investigadores.<sup>84,85,86</sup>

#### Hipertensión

La relación de la hipertensión con el nivel de adiponectina plasmática fue demostrada en pacientes con hipertensión esencial, en los que se presentó niveles significativamente bajos en relación con sujetos sanos normotensos (9.1  $\mu\text{g/mL}$  y 13.7  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente), existiendo una relación inversa entre la concentración plasmática de adiponectina y la presión sanguínea sistólica y diastólica.<sup>81</sup>

#### Resistencia a la Insulina y Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2)

De acuerdo con Tilg H. y Moschen 2006, el tratamiento de animales obesos con adiponectina (adiponectina globular (gAD)), ha mostrado reducir la hiperglicemia y el nivel FFAs en plasma, mejorando la resistencia a la insulina. Ya que activa la AMPK tras la estimulación del receptor AdipoR1, para incrementar la fosforilación de la acetil CoA carboxilasa (CCA), reducir la producción de malonil CoA e incrementar la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT-1) y la oxidación mitocondrial de ácidos grasos.<sup>87,88,89</sup>

En individuos obesos, el factor de TNF- $\alpha$  y IL-6, han sido encontrados en alta concentración en el tejido adiposo, adipocitocinas que pueden reducir la sensibilidad a la insulina, tanto *in vitro* como *in vivo*. En humanos, el TNF- $\alpha$  reduce el gen de expresión y la secreción de la adiponectina desde los preadipocitos, como también desde fragmentos del tejido adiposo. Se sugiere también, que el TNF- $\alpha$  es el responsable de la reducción de los niveles de adiponectina, cuando el área de masa grasa y con ella el índice de masa corporal (IMC) aumentan.<sup>90,91</sup>

---

<sup>80</sup> Fantuzzi G. y Mazzone T. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; v.27, p.996-1003.

<sup>81</sup> Von Eynatten M. y col. *Clin. Chem.* 2006; v.52, n.5, p.853-9.

<sup>82</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis.* 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>83</sup> Xu B. y col. *J. Hypertens.* 2006; v.24, p.915-22.

<sup>84</sup> Katsuki A. y col. *Diab. Res. Clin. Pract.* Aceptado en Febrero de 2006, en edición.

<sup>85</sup> Nakamura Y. y col. *Heart.* 2004; v.90, p.528-33.

<sup>86</sup> Kato H. y col. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.224-30.

<sup>87</sup> Tilg H. y Moschen A.R. *Nature.* 2006; v.6, p.772-83.

<sup>88</sup> Chen M.B. y col. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 2005; v.90, p.3665-72.

<sup>89</sup> Kadowaki T. y col. *J. Clin. Invest.* 2006; v.116, p.1784-92.

<sup>90</sup> Lihn A.S. y col. *Obesity Reviews.* 2005; v.6, p.13-21.

<sup>91</sup> Senn J.J. y col. *Diabetes.* 2002; v.51, p.3391-9.

El incremento de los niveles de TNF- $\alpha$  e IL-6 en condiciones de desorden metabólico, son factores debidos a la acumulación de tejido adiposo visceral, lo cual además reduce la expresión de la adiponectina. Así, se ha descrito que la insulina induce la secreción y el gen de expresión de la adiponectina *in vitro*, en adipocitos viscerales humanos.<sup>92</sup>

El efecto de los agonistas  $\beta$  adrenérgicos y análogos del AMPc, inhiben el gen de expresión de la adiponectina y la secreción de esta, convirtiéndose en promotores de resistencia a la insulina.<sup>93,94</sup>

En población japonesa, se observó que los niveles de adiponectina disminuyen en paralelo con la disminución de la sensibilidad a la insulina, antes de que la diabetes aparezca.<sup>95</sup>

Usando cultivos de células de hepatoma y hepatocitos primarios de rata, se encontró que la adiponectina en el primer caso reduce la producción de glucosa independiente de la insulina, por inhibición de la gluconeogénesis y de la glicogenolisis. La inhibición de la glucogénesis en las células de hepatoma se sucede por supresión de la expresión de glucosa-6-fosfatasa (G-6-Pasa) y de la fosfoenolpiruvato carboxicinas (PEPCK). En conclusión la adiponectina parece regular el metabolismo de la glucosa en ausencia de la insulina, sin incrementar la sensibilidad a la insulina en el sistema de cultivos celulares usado.<sup>96</sup>

En un grupo de parientes en primer grado de pacientes con diabetes tipo 2, se caracterizó una mayor resistencia a la insulina y menor nivel del RNAm de adiponectina en tejido adiposo. Destacándose, que el dominio globular de la adiponectina, más no de la adiponectina total, reduce el nivel plasmático de glucosa.<sup>97</sup>

Trabajando en un modelo de ratones con lipodistrofia y resistencia a la insulina, determinó que estos animales resultaron también hiperinsulinémicos, hiperglicémicos y además, carentes de adiponectina sérica. La infusión sistémica de adiponectina recombinante o en combinación con leptina, mejoró a los animales de la hiperglicemia y la hiperinsulinemia, sugiriendo que la resistencia a la insulina de los ratones lipoatróficos, puede ser causada por deficiencia de adipocitocinas como la adiponectina y la leptina.<sup>96</sup>

En el estudio realizado por Bacha y col., con menores, se demostró que la adiponectina es un fuerte y directo predictor de la sensibilidad hepática y periférica a la insulina, igual que del metabolismo de la glucosa. Así, la hipoadiponectinemia puede ser un marcador no solo de la resistencia a la insulina, sino además, de la disfunción de las células beta y la DM2.<sup>98</sup>

### Dislipidemia

En pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la dislipidemia se encuentra relacionada con el nivel de adiponectina.<sup>99</sup>

Se ha planteado una correlación inversa y significativa, entre los niveles plasmáticos de adiponectina y la proporción de la fracción catabólica de la apolipoproteína A-I del colesterol HDL (apoA-I FCR), su principal apolipoproteína (asociada con edad, obesidad abdominal, triglicéridos plasmáticos, HDL y sensibilidad a la insulina). Situación que sugiere igualmente,

<sup>92</sup> Halleux C. M. y col. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; v.288, p.1102-7.

<sup>93</sup> Chen M.B. y col. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 2005; v.90, p.3665-72.

<sup>94</sup> Fasshauer M. y col. *Federation of European Biochemical Societies- FEBS Letters.* 2001; v.507, p.142-6.

<sup>95</sup> Daimon M. y col. *Diabetes Care.* 2003; v.26, n.7, p.

<sup>96</sup> Yamauchi T. y col. *Nature Medicine.* 2001; v.7, n.8, p.941-6.

<sup>97</sup> Lihn A.S. y col. *Obesity Reviews.* 2005; v.6, p.13-21.

<sup>98</sup> Bacha F. y col. *Diabetes Care.* 2004; v.27, p.547-52.

<sup>99</sup> Schulze M.B. y col. *Diabetes Care.* 2004; V.27, p.1680-7.

una relación inversa entre adiponectina y la enfermedad coronaria, que resulta considerablemente atenuada tras el ajuste lipídico, principalmente de colesterol HDL. No fue hallada relación entre los niveles de glicemia en ayunas con los de adiponectina plasmática. Por esto se admite ahora, que existe una correlación inversa entre niveles de adiponectina y el catabolismo acelerado de las HDL, siendo igualmente un factor responsable por la disminución de los niveles de colesterol HDL en individuos resistentes a la insulina.<sup>100,101</sup>

#### Relación Genética entre Adiponectina y Enfermedad Metabólica

La información sobre la función de la adiponectina ha sido revelada a partir de mutaciones de su gen. Se han revelado ocho mutaciones en el gen de adiponectina humana, algunos de los cuales están estrechamente relacionados con la diabetes y la hipoadiponectinemia, encontrándose asociación con la enfermedad de arteria coronaria.<sup>102</sup>

#### Efectos Metabólicos de la Adiponectina

La adiponectina recombinante inyectada a ratones resistentes a la insulina, obesos o desprovistos de tejido adiposo, mejora considerablemente las anomalías metabólicas, lo cual se traduce en una mejoría de la resistencia a la insulina, asociada a la normalización del perfil lipídico y la reducción de la esteatosis muscular y hepática. Igualmente, en humanos se ha hecho manifiesto que dietas con restricción calórica por largos períodos, conducen a recuperación de la sensibilidad a la insulina y mejora los niveles de adiponectina, efectos sobre citocinas como IL-6 y TNF- $\alpha$ , conocidas por sus implicaciones en la resistencia a la insulina.<sup>103</sup>

En conjunto las adipocitocinas juegan una función importante en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, controlando la homeostasis energética y mediando la función secretora de insulina y su acción. Entre ellas la leptina y la adiponectina, tienen una función supresora de la acetilcoenzima A carboxilasa (ACC), por lo que estimulan la oxidación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en músculo e hígado, generando respectivamente mejor captación de glucosa en músculo y menor gluconeogénesis en hígado. Esto contribuiría a la oxidación lipídica en las células  $\beta$ , con el consiguiente efecto sobre la secreción de insulina, llevando a pensar que la adiponectina protege frente a la apoptosis de células  $\beta$ , inducida por los NEFA y las citocinas que la producen.<sup>104,105</sup>

## INTERVENCIONES QUE INCREMENTAN LOS NIVELES DE ADIPONECTINA

- Dieta

La vida media de la adiponectina en suero es de 2.5 a 6 horas, con una variación diurna de la concentración, que declina en horas nocturnas y alcanza un nivel máximo tarde en la mañana. Se plantea además que los niveles de adiponectina circulante, después de la restricción calórica que induce pérdida de peso corporal, incrementa los niveles plasmáticos de adiponectina. Se determinó, que la adiponectina únicamente incrementa la sensibilidad a la insulina, tras la reducción de peso.<sup>106</sup>

---

<sup>100</sup> Vergès B. y col. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* Aceptado en Marzo de 2006, en edición.

<sup>101</sup> Musso G. y col. *Hepatology.* 2005; v.42, p.1175-83.

<sup>102</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis.* 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>103</sup> Kim M.J. y col. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.* 2006; v. 21, p1-7.

<sup>104</sup> Havel P.J. *Curr. Opin. Lipidol.* 2002; v.13, p.51-59.

<sup>105</sup> Staiger K. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; v.90, p6707-13.

<sup>106</sup> Maeda N. Y col. *Nature Medicine.* 2002;v.8, n.7, p.731-7.



En pacientes obesos tratados con cirugía de resección gástrica, se presentó en un 46% de ellos un incremento de nivel plasmático de adiponectina, acompañado en el 21% por reducción del índice de masa corporal. Los cambios en los niveles de adiponectina fueron asociados a cambios en el índice de masa corporal, circunferencia de cintura y cadera, y niveles plasmáticos de glucosa.

Se ha visto que la proteína de soya puede tener efectos benéficos en la expresión de adiponectina, a pesar de no reducir en peso corporal. Similar efecto se ha visto en mujeres premenopáusicas, con dieta mediterránea baja en calorías.<sup>107</sup>

- Fibratos

La terapia con fenofibrato mejora significativamente el porcentaje de flujo sanguíneo mediado por la respuesta dilatadora ante la hiperemia, reduce los niveles de los marcadores de inflamación, incrementa los niveles de adiponectina y mejora la sensibilidad a la insulina en pacientes hipertriglicéridémicos o con síndrome metabólico, mostrando recuperación cardiovascular y de la estenosis coronaria.<sup>108</sup>

- Estimulantes del Receptor de Peroxisomas Activados por Proliferadores de tipo  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ )

En el trabajo de 2006 de Yin W.H. y col., se cita que entre los receptores nucleares, PPAR $\gamma$  es el principal regulador de la diferenciación de adipocitos y control de muchos de sus genes.<sup>109</sup>

Se ha demostrado que agonistas del PPAR- $\gamma$ , como las tiazolidindionas, incrementan los niveles plasmáticos de adiponectina. La investigación humana con agonistas PPAR- $\gamma$  ha confirmado su efecto benéfico sobre los niveles de adiponectina, uno de los mecanismos por los que mejoran la sensibilidad periférica a la insulina.<sup>110</sup>

- Otros Fármacos

En pruebas en rata macho Wistar Kyoto, tratadas por ocho semanas con el antagonista del receptor 1 de la angiotensina II (AT1R) – candesartan cilexetil (10 mg/kg/día), se encontró, que incrementan el nivel sérico de adiponectina.<sup>111</sup>

Los agonistas  $\beta$  adrenérgicos, los activadores de la adenilato ciclasa y los glucocorticoides inhiben el gen de expresión de adiponectina y su secreción.<sup>112</sup>

## FÁRMACOS EN EL TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA ASOCIADA CON LA ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, encontramos que dentro de los grupos de fármacos comúnmente usados, en este tipo de complicación, tenemos:<sup>113</sup> inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA - Enalapril), bloqueadores del receptor 1 de angiotensina II (ARB – Telmisartan), betabloqueadores (Metoprolol), calcioantagonistas (Amlodipino), nitratos y derivados (5-mononitrato de isosorbide), diuréticos (Furosemida), antiagregantes plaquetarios (Ácido acetilsalicílico-Aspirina-ASA), hipolipemiantes (Simvastatina),

---

<sup>107</sup> Boudou P. y col. *Eur. J. Endocrinol.* 2003; v.149, p.421-4.

<sup>108</sup> Koh K.K. y col. *Diabetes Care.* 2005; v.28, p.1419-24.

<sup>109</sup> Yin W.H. y col. *Diabetes Metab.* 2006; v.32, p.229-35.

<sup>110</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis.* 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>111</sup> Arauz-Pacheco C. y col. *Am. J. Hypertens.* 1995; v.8, n.4, Part 2, p.44A.

<sup>112</sup> Havel P.J. *Curr. Opin. Lipidol.* 2002; v.13, p.51-59.

<sup>113</sup> Pfisterer M. y col. *JAMA.* 2003; v.289, p.1117- 23.

hipoglucemiantes orales: sulfonilureas (SU - Glibenclamida), tiazolidindionas (TZD – rosiglitazona) y biguanidas (metformina).

Dentro de estos grupos farmacológicos, aún se cuenta con poca información sobre su influencia en la fisiología y fisiopatología de la adiponectina, aspecto que resulta de gran relevancia sabiendo que es una adipocitocina, que cobra importancia como sustrato de la terapéutica de las patologías tratadas anteriormente, debido a su significancia metabólica.

De acuerdo con lo citado hasta el momento en la bibliografía internacional, podemos resaltar los siguientes aspectos, respecto a estos grupos farmacológicos:

## INHIBIDORES DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA, IECA (Enalapril)

Los IECA son compuestos usados principalmente en el tratamiento de patologías cardiovasculares como la hipertensión general y con ella, la esencial y la renovascular, cardiopatía isquémica, infarto agudo del miocardio, insuficiencia cardiaca, ateloscrosis, etc. Igualmente en las producidas por de las anteriores, o de aquellas que involucran alteraciones metabólicas como la diabetes mellitus tipo I y II, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal crónica y alteraciones nutricionales.<sup>114,115,116</sup>

Actúan sobre el sistema renina-angiotensina (RAS), principalmente a nivel renovascular y con una función importante en todas las formas de hipertensión. Aunque como se sabe hace años, la actividad de los IECA no se debe únicamente a la inhibición enzimática, porque además, existen sistemas alternativos al RAS con distribución en diversos tejidos y con actividad funcional de carácter paracrino y autocrino, sobre los que presentan también actividad.<sup>117,118,119,120</sup>

### Efectos metabólicos

La inhibición del RAS tiene efectos metabólicos (reducción de la *resistencia a la insulina* y de la *intolerancia a la glucosa*) y hemodinámicas. Los pacientes con hipertensión esencial frecuentemente tienen afectada la tolerancia a la glucosa, debido al aumento de la resistencia a la insulina en músculo esquelético, el cual comprende el 40% de la masa corporal y es el sitio predominante de utilización de la glucosa estimulada por la insulina. Con el envejecimiento y un estilo de vida sedentario, se asocia una propensión aumentada a la hipertensión, con reducción de la masa muscular esquelética y de la sensibilidad a la insulina. Además existe una asociación entre la presión sanguínea y la proporción de fibras de tipo II en el músculo esquelético, las cuales son menos sensibles a la insulina que las de tipo I. Interesantemente, los IECA y los bloqueadores de receptores de Ang II (ARB), pueden llevar el tejido del músculo esquelético hacia un mayor porcentaje de fibras de tipo I.<sup>120</sup>

Todos los componentes del RAS están representados en el tejido adiposo. En el caso del angiotensinógeno, en la obesidad es sobreexpresado con subsiguiente sobreproducción de Ang II, que se cree inhibe la diferenciación de los preadipocitos y promueve acumulación de triglicéridos en adipocitos maduros, ocasionando baja sensibilidad a la insulina. La hiperinsulinemia presentada, favorece la activación simpática y la retención de sodio y agua,

<sup>114</sup> Copstead L.C., Banasik J.L. (2005) Pathophysiology 3ª Edt. Elsevier, St. Louis Missouri, p. 416-25.

<sup>115</sup> Vásquez A.V. y col. *Rev. Cubana Farm.* 1998; v.32, n.3, p.204-10.

<sup>116</sup> Tobacova S. *Critical Reviews in Toxicology.* 2005; v.35, p. 747-55.

<sup>117</sup> Murohara T. y col. *Circulation.* 1998; v.97, 99–107.

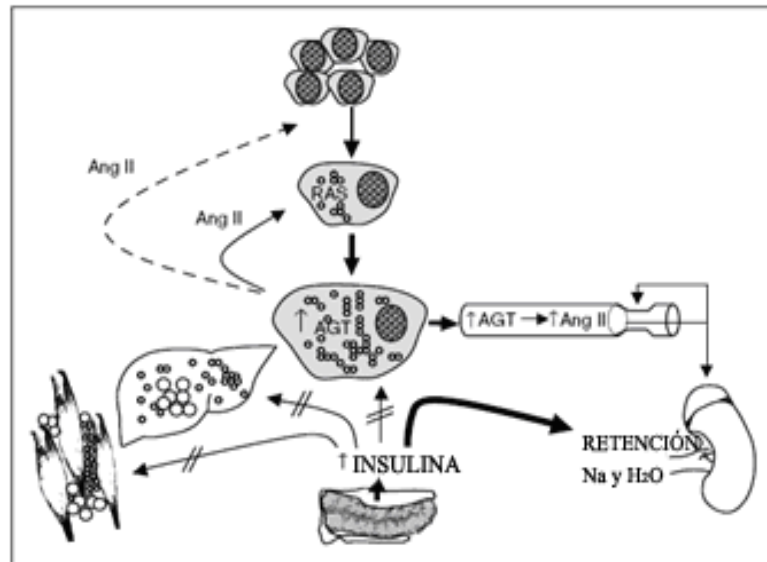
<sup>118</sup> Chen J.W. *Am. J. Cardiol.* 2002; v90, p. 974-82.

<sup>119</sup> Harrold M., (2002) Foye's principles of medicinal chemistry. 5 Ed. Lipincott Williams and Wilkins, Baltimore. p.309, 533-61.

<sup>120</sup> Strazzullo P., Galletti F. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2004; v.13, p.325–32..

aumentando los niveles plasmáticos de angiotensinógeno debido a hipersecreción de los adipocitos en la obesidad<sup>120</sup> (Fig. 10).

Se ha descrito que la Ang II tiene actividad tanto *lipolítica* como *antilipolítica*. El primer efecto se justifica por el estímulo de la generación de inositol 3 fosfato, seguido por el aumento de la concentración de calcio citosólico, que se encuentran asociados con la lipólisis incrementada en adipocitos.



**Figura 10.** Cambios fisiopatológicos asociados con la activación del RAS en el tejido adiposo en la obesidad. (angiotensinógeno: AGT, angiotensina II: Ang II) (Reproducción de<sup>121</sup>)

El segundo efecto, puede deberse a la vasoconstricción producida por la estimulación de adrenoreceptores  $\alpha_2$  en la obesidad, lo cual reduce el flujo sanguíneo al tejido adiposo subcutáneo abdominal, frenando además, directamente la lipólisis. Siendo así, el exceso de secreción de Ang II en la obesidad podría resultar en acumulación y reesterificación de ácidos grasos libres, con la inhibición de la lipólisis.<sup>121</sup>

#### RAS y Ruta de Señalización de la Insulina

El transporte de glucosa en el músculo esquelético depende de la insulina, requiriendo la unión de la insulina circulante al receptor de la membrana plasmática (sarcolema), lo que activa la cascada de fosforilación. Esto lleva a la translocación del transportador 4 de glucosa sensible a la insulina (GLUT4) al sarcolema, facilitando la captación de glucosa en la célula. Hay evidencia de que la Ang II interfiere con la señalización de la insulina en músculo esquelético. El factor existente para que esto suceda es un RAS paracrino, fisiológicamente funcional en músculo esquelético, que incluye la Ang I, ECA y receptores de angiotensina. Estudios en animales y humanos han mostrado que la inhibición de la ECA o el bloqueo de receptores de angiotensina por largos periodos, aumenta la sensibilidad a la insulina (Fig. 11). Entre los mecanismos por los que la Ang II puede inhibir la ruta de señalización de la insulina, están:

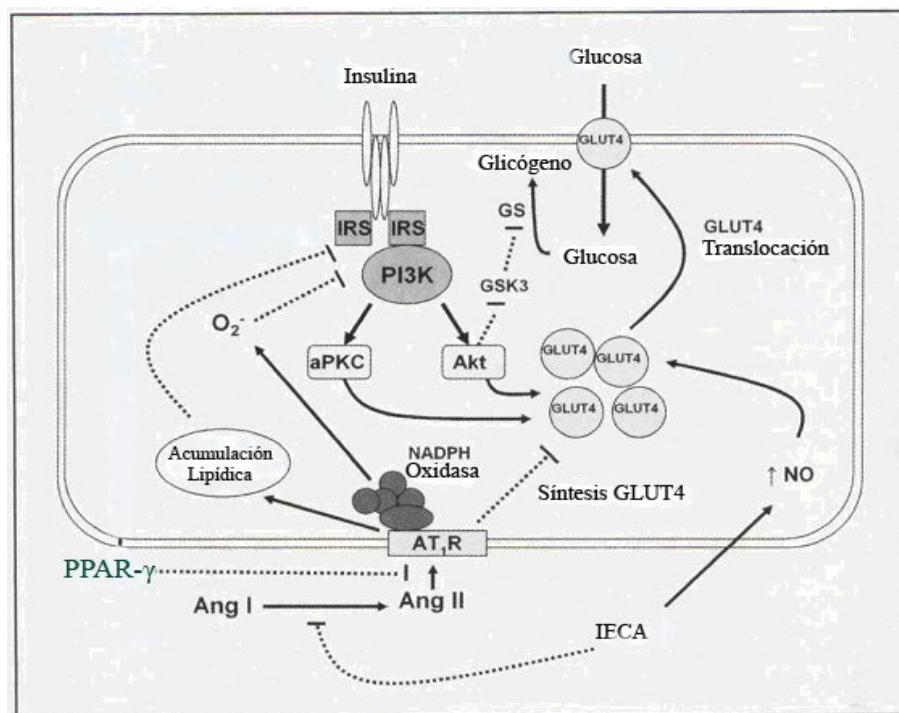
1-. La Ang II puede actuar como regulador negativo del gen de expresión del GLUT4 en músculo esquelético, mientras el antagonismo de los receptores de Ang II y la inhibición de la

<sup>121</sup> Strazzullo P., Galletti F. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2004; v.13, p.325–32.

ECA por largos periodos, aumentan el transportador GLUT4 contenido en el músculo esquelético. Estos efectos están mediados por la activación del ATR1 y curiosamente los agonistas del PPAR $\gamma$  deprimen la expresión de este receptor.

2-. La inhibición de la óxido nítrico sintasa induce resistencia a la insulina, mientras que los donadores de NO estimulan la captación de glucosa, reduciendo la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). La Ang II regula la producción de ROS, perjudicando la señalización de la insulina. (Figura 11).<sup>122,123,128</sup>

Markkola y col. observaron en su investigación que parte de la resistencia a la insulina en pacientes hipertensos con diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM), es disminuida durante el tratamiento antihipertensivo con enalapril. También se vio ligera mejoría del control glucémico, de lípidos séricos y de la excreción de albúmina durante el tratamiento por 4 semanas con enalapril, lo cual confirma la recuperación de la utilización de glucosa en un 30% en estos pacientes.<sup>124</sup>



**FIGURE 11.** Mecanismos potenciales por los que el RAS afecta la sensibilidad a la insulina y el transporte de glucosa en el músculo esquelético. ACE-I = enzima convertidora de angiotensina; Akt = proteincinasa B; Ang = angiotensina; aPKC = proteincinasa C atípica; ARB = bloqueador del receptor de angiotensina; AT $_1$ R = receptor de angiotensina 1; GLUT4: transportador 4 de glucosa, sensible a la insulina; GS = glicogenosintasa; GSK3 = glicógeno sintasa 3 cinasa; IRS: receptor de sustrato de insulina; NO = nítrico óxido; O $_2^-$  = anión superóxido; PI3K = fosfatidilinositol 3 cinasa; PPAR- $\gamma$  = receptor del peroxisoma activado por proliferadores tipo  $\gamma$ .

(Reproducción de<sup>125</sup>)

En pacientes con hipertensión esencial y en la NIDDM, los IECA aumentan el flujo sanguíneo por varios mecanismos. Estos incluyen la reducción de los niveles de Ang II (potente vasoconstrictor), y el aumento del nivel de bradicinina como vasodilatador, incluyendo sus propiedades similares a las de la insulina. Además los IECA parecen reducir la liberación de

<sup>122</sup> Malendowicz S.L. y col. *Circulation*. 2000; v.102, p.2210-3.

<sup>123</sup> Emsberger P. and Koletsky R.J. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007; v.7, p.140-5.

<sup>124</sup> Markkola H.V., Jarvinen H.Y. *Metabolism*. 1995; v.44, n.1, p.85-9.

<sup>125</sup> Stump C.S. y col. *Mayo Clin. Proc.* 2006; v.81, n.6, p.796-806.

noradrenalina, en la pared de los vasos sanguíneos y disminuyen la respuesta del músculo liso vascular, al estímulo vasoconstrictor  $\alpha$ -adrenérgico.<sup>124,126,127</sup>

#### Efectos sobre la Adiponectina

El tratamiento con IECA aumenta la función endotelial estimulada por la insulina en pacientes con DM2, incrementando el gen de expresión de adiponectina vascular.

Se ha encontrado que los IECA incrementan los niveles plasmáticos de adiponectina en individuos resistentes a la insulina, además que su gen de expresión puede ser estimulado también en células musculares.<sup>128</sup>

Otro aspecto en el que se encuentra acción de la adiponectina es en la prevención de la aterosclerosis, en la que cortos tratamientos con IECA aumentan las concentraciones circulantes de adiponectina y mejoran la sensibilidad a la insulina<sup>129</sup>

#### BLOQUEADORES DEL RECEPTOR 1 DE ANGIOTENSINA II (AT1R), ARB (Telmisartan)

El telmisartan es un antagonista competitivo específico del AT1R. El prolongado tratamiento con estos fármacos, desinhibe la secreción e incrementa los niveles circulantes de Ang II, permitiendo la estimulación del receptor 2 de angiotensina II (AT2R) y consecuente vasodilatación.

Relajan la musculatura lisa vascular, incrementan la excreción de sales, reducen la hipertrofia celular e inducen efecto antihipertensivo.<sup>130</sup>

#### Efectos metabólicos

Derosa G. y col., mostraron que los ARB, actúan como agentes preventores de diabetes, con efecto directo en islotes pancreáticos como reguladores de PPAR $\gamma$ , mejorando la acción de la insulina.<sup>132</sup> Actividad que se justifica, por la necesaria activación PPAR $\gamma$ , para la expresión de GLUT4, receptores de insulina y sustrato receptor de insulina (IRS), como lo plantea Moriuchi K. y col. 2007.<sup>131</sup>

El telmisartan posee efecto renoprotector similar al enalapril y tienen buen efecto metabólico en diabéticos. Tratamiento prolongado con él, reduce el C-LDL, mejorando los parámetros de homeostasis de la glucosa (HbA1c, glucosa plasmática en ayunas e insulino resistencia).<sup>132</sup>

Negro R., describió que los ARB a través del bloqueo del RAS, detienen el deterioro de la señalización de la insulina producido por la Ang II, incrementan el flujo sanguíneo en músculo esquelético, aumentan las fibras musculares tipo 1 sensibles a la insulina y reducen el nivel del TNF- $\alpha$  en músculo esquelético, generando así, mayor sensibilidad a la insulina y nivel de adiponectina. El bloqueo del RAS estimula la actividad del PI-3K, regulando la exocitosis de adiponectina mediada por insulina. El telmisartan (40 mg), ha mostrado efecto favorable en el control de la glicemia, con reducción significativa de la HbA1c (8.1 a 7.4%).<sup>133</sup> Además de esto, Erbe D.V. y col. en 2006, citan el riesgo del desarrollo de diabetes baja con los fármacos IECA o ARB, al incrementar la señalización y secreción de insulina

<sup>126</sup> Mombouli J.V., Vanhoutte P.M. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992; 20 (Suppl 9), p.S74-82.

<sup>127</sup> Jain S. y col. *Renal Failure.* 2001; v.23, n.5, p.651-57.

<sup>128</sup> Mohlig M. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; v.91, p.964-7.

<sup>129</sup> Agata J. y col. *Circ. J.* 2004; v.68, p.1194-8.

<sup>130</sup> Derosa G. y col. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2007; v.32, p.261-8.

<sup>131</sup> Moriuchi K. y col. *Biochem. Biophys. Res. Común.* 2007; v.356, p.1024-30.

<sup>132</sup> Chen J.W. y col. *Am. J. Cardiol.* 2002; v90, p. 974-82.

<sup>133</sup> Negro R., Hassan H. *JRAAS.* 2007; v.7, p.243-6. (*Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*)

producto de mejor microcirculación en músculo esquelético, mejoran la señalización de insulina a nivel celular y/o incrementan la secreción de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas, debido al aumento del nivel plasmático de potasio y mejor flujo sanguíneo.<sup>134</sup>

Estudios clínicos desarrollados por Li Y.Q. y col., han probado y confirmado lo planteado por estudios previos: que el telmisartan a altas dosis, mejora el metabolismo de lípidos y carbohidratos, con reducción de la ganancia de peso, el nivel plasmático de FFA, glucosa, insulina y hepático de TG en ratas macho, con recuperación de la sensibilidad a la insulina y mayor captación de glucosa mediada por esta en grasa epididimal y músculo esquelético; además, aumentando la expresión de GLUT4.<sup>135,136,137</sup>

Fujimoto M. y col. en 2004, confirman los efectos de las TZD y los ARB, sobre los PPAR $\gamma$  y encuentran que el telmisartan, aumenta la expresión de genes blanco de los PPAR $\gamma$  en adipocitos murinos y humanos, y en miocitos murinos. Hallaron evidencias de que la activación del sistema renina-angiotensina (RAS), daña pasos de la señalización de la insulina, como el de fosforilación de tirosina en el IRS o la activación del PI-3K.

También se vio reducción de la expresión del RNAm del 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11 $\beta$ -HSD), inductor de la resistencia a la insulina en adipocitos.<sup>138</sup>

La diferenciación de adipocitos producida por el Telmisartan, incrementa la grasa subcutánea y reduce la visceral y reduce los TG con dosis de 20 mg<sup>139,140</sup>

Un blanco de los ligandos PPAR $\gamma$ , es el transportador de FA CD36, una molécula que media la captación de FFA por adipocitos y células musculares, afectada por el daño del metabólico en humanos y animales, frecuentemente deficiente en poblaciones humanas con DM2. El telmisartan aumenta la expresión del CD36, mejorando la sensibilidad a la insulina.<sup>135</sup>

#### Efectos sobre la Adiponectina

Como mostró Derosa G. y col., el tratamiento prologado con telmisartan incrementa el nivel de adiponectina y reduce el de resistina.<sup>141</sup>

De acuerdo con la investigación de Moriuchi K. y col., los ARB entre ellos el telmisartan, determinan la transcripción de adiponectina, como un efecto PPAR $\gamma$  dependiente para las TZD e independiente para los ARB.<sup>142</sup>

Se vio en el trabajo de Kintscher U. y col., que la angiotensina II, genera la producción de adiponectina en adipocitos 3T3, efecto que puede ser estimulado por los ARB, mostrando que la activación PPAR $\gamma$  se da a altas concentraciones de ARB, con inducción de la expresión de adiponectina independiente del bloqueo AT1R. La activación adicional de AT2R, regula la expresión de adiponectina.<sup>137</sup>

También se sugiere, regulación de la expresión del RNAm de la adiponectina, inducida por ausencia de Ang II.<sup>136</sup>

---

<sup>134</sup> Erbe D.V. y col. *Vascular Pharmacol.* 2006; v.45, p.154-62.

<sup>135</sup> Li Y.Q. y col. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2006; v.373, p.264-70.

<sup>136</sup> Clasen R. y col. *Hypertension.* 2005; v.46, p.137-43.

<sup>137</sup> Kintscher U., Unger T. *Acta Diabetol.* 2005; v.42, p.S26-32.

<sup>138</sup> Fujimoto M. y col. *FEBS Letters.* 2004; v.576, p.492-7. (*Federation of European Biochemical Societies Published*)

<sup>139</sup> Negro R., Hassan H. *JRAAS.* 2007; v.7, p.243-6. (*Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*)

<sup>140</sup> Erbe D.V. y col. *Vascular Pharmacol.* 2006; v.45, p.154-62.

<sup>141</sup> Derosa G. y col. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2007; v.32, p.261-8.

<sup>142</sup> Moriuchi K. y col. *Biochem. Biophys. Res. Común.* 2007; v.356, p.1024-30.

La secreción y contenido de adiponectina en los adipocitos, inducida por telmisartan, podría afectar la sensibilidad a la insulina únicamente bajo condiciones clínicas con depleción de adiponectina, como mostró Benndorf R.A.<sup>143</sup>

## BLOQUEANTES BETA ADRENÉRGICOS (Metoprolol)

Los antagonistas de los receptores  $\beta$  adrenérgicos, deben sus acciones al bloqueo ejercido sobre sus receptores en los diferentes tejidos y a la actividad de los nervios simpáticos que inervan, recibiendo gran atención por su eficacia como fármacos para la hipertensión, la cardiopatía isquémica, la insuficiencia cardiaca congestiva y arritmias.

Afectan la circulación por diferentes mecanismos, como la reducción de la contractibilidad del miocardio y el gasto cardiaco. Igualmente, propician una reducción de la liberación de renina y con ello de angiotensina II, con el consecuente efecto sobre la aldosterona, a lo que podría atribuirse sus efectos antihipertensivos.<sup>144</sup>

### Efectos metabólicos

Los bloqueantes  $\beta$  adrenergicos, son compuestos que modifican el metabolismo de lípidos y carbohidratos, inhibiendo la glucogenolisis inducida por catecolaminas y el transporte de glucosa, afectando la recuperación de la hipoglicemia en las diabéticos dependientes de insulina. El metoprolol como antagonista  $\beta_1$  selectivo, no manifiesta este inconveniente y con poca regularidad, el bloqueo  $\beta$  obstruye la descarga de insulina, que es promovida por los agonistas  $\beta$  adrenérgicos.<sup>144</sup> Una evaluación hecha de la influencia de fármacos cardiosselectivos (metoprolol y acebutolol), sobre los niveles de glucosa sanguínea durante hipoglicemia inducida por insulina, mostró que potencian inicialmente la acción hipoglicemiante de la insulina, demorando además, el retorno a niveles normoglicémicos.<sup>145</sup> Con seis pacientes hipertensos diabéticos maduros, se realizó una evaluación con propranolol (80 y 16 mg) y metoprolol (100 y 200 mg), comprobándose bloqueo en el transporte de glucosa y elevada glicemia, en comparación con el grupo placebo. El aumento de la resistencia a la insulina (usando como marcador el nivel de proinsulina), dispara los factores de riesgo del infarto de miocardio, y aun más por la influencia metabólica de los  $\beta$ -bloqueadores y diuréticos.<sup>146,147</sup>

Los  $\beta$  bloqueadores pueden inhibir la activación de la lipasa sensible a hormonas (LSH) en células grasas<sup>148,149</sup>, reduciendo la liberación de FFA a la circulación. Las concentraciones de FFA en ayunas, son reducidos con la administración de acebutolol y propranolol, retardando su retorno a la normalidad después de la administración de insulina. Aunque la evaluación del metoprolol no ha mostrado tal efecto.<sup>149</sup> Sin embargo en un ensayo sistemático con 44 enfermos hipertensos ambulatorios (20 varones, 24 hembras), entre 34-70 años, se mostró que el nivel de triglicéridos plasmáticos tiende a aumentar durante el tratamiento con metoprolol.<sup>150</sup>

El tratamiento con antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos ha sido asociado además con la caída del C-HDL y aumento del C-LDL, efecto directo de los  $\beta$ -boqueadores. El aumento del colesterol de

<sup>143</sup> Benndorf R.A. y col. *Med. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.1159-64.

<sup>144</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>145</sup> Newman R.J. *British Medical Journal*. 1976; v.2, p.447-9.

<sup>146</sup> Woods K.L. y col. *British Medical Journal*. 1980; v.281, p.1321.

<sup>147</sup> Dunder K. y col. *British Medical Journal*. 2003; v.326, p.1-5.

<sup>148</sup> Day J.L. y col. *British Medical Journal*. 1982; v.284, p.1145-48.

<sup>149</sup> Rohifing J.J., Brunzell J.D. *West. J. Med.* 1986; v.145, p.210-8.

<sup>150</sup> Waal-Manning H.J., Simpson F.O. *British Medical Journal*. 1977; v.2, p.705.

lipoproteínas de muy baja densidad (C-VLDL) compensa la disminución de C-HDL, de tal forma que no existe modificación significativa en el colesterol total.

La disminución de FFA en plasma durante el tratamiento con  $\beta$ -bloqueadores, se opone al aumento en la síntesis hepática de triglicéridos.<sup>148,149</sup>

Efectos sobre la Adiponectina

De acuerdo con lo descrito por Celik T. y col. en 2006, en un estudio con pacientes hipertensos, el tratamiento con metoprolol muestra una ligera reducción no significativa del nivel plasmático de adiponectina, frente a los niveles existentes antes del tratamiento y el incremento significativo producido por el tratamiento con nebivolol, otro  $\beta$  bloqueador.<sup>151</sup>

## CALCIOANTAGONISTAS (Bloqueantes de Canales del Calcio - Amlodipino)

Considerando el mecanismo seguido por ellos, tomaremos como prototipo al amlodipino, una dihidropiridina comúnmente usada en el ámbito clínico y ambulatorio, para el tratamiento de las diferentes clases de angina. En general los bloqueadores de canales del calcio como el amlodipino, son recomendados como antihipertensores, ya que no presentan efectos adversos en el metabolismo de lípidos y de la glucosa.

Inhibiendo la entrada de calcio extracelular reduce la contracción de células de miocardio, mientras que la inhibición de la liberación de calcio de los depósitos intracelulares, reduce la contracción de células de músculo liso vascular. Bloquean los canales dependientes de voltaje, interviniendo la liberación de calcio intracelular o bloqueando los canales operados por receptor.<sup>152</sup>

Efectos Metabólicos

Fármacos como el amlodipino, manipino y nicardipino, inhiben la producción del TNF- $\alpha$  desde células mononucleares en sangre periférica (PBMCs) de ratón *in vivo* y desde PBMCs de humano *in vitro*.<sup>153</sup>

Así mismo, se ha observado que tras la terapia con amlodipino, los niveles totales de colesterol LDL y HDL, la concentración de glucosa, ácidos grasos libres e insulina en plasma, permanecen sin alteración significativa, por lo que se ha concluido que el amlodipino no interfiere con el metabolismo energético ni con el flujo de sustratos.

En un estudio comparativo en pacientes con hipertensión esencial entre el amlodipino y el enalapril, se concluyó que ambos presentan el mismo grado de aumento de la sensibilidad a la inulina, y que el amlodipino además, reduce el C-LDL.<sup>154</sup>

## NITRODERIVADOS (5-mononitrato de isosorbide)

Los compuestos de esta naturaleza comúnmente usados en el tratamiento de patologías cardiovasculares son esteres poliólicos derivados del ácido nítrico, como la Nitroglicerina, cuya característica es que relajan casi toda la musculatura lisa, generando vasodilatación sin alterar la resistencia vascular al liberar óxido nítrico (NO), por lo cual son regularmente usados en el tratamiento de la angina, la insuficiencia cardiaca congestiva y el infarto de miocardio.<sup>155</sup>

---

<sup>151</sup> Celik T. y col. *J. Hipertensión*. 2006; v.24, p.591-6.

<sup>152</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>153</sup> Fukuzawa M. y col. *Immunopharmacology*. 2000; v.48, p.65-74.

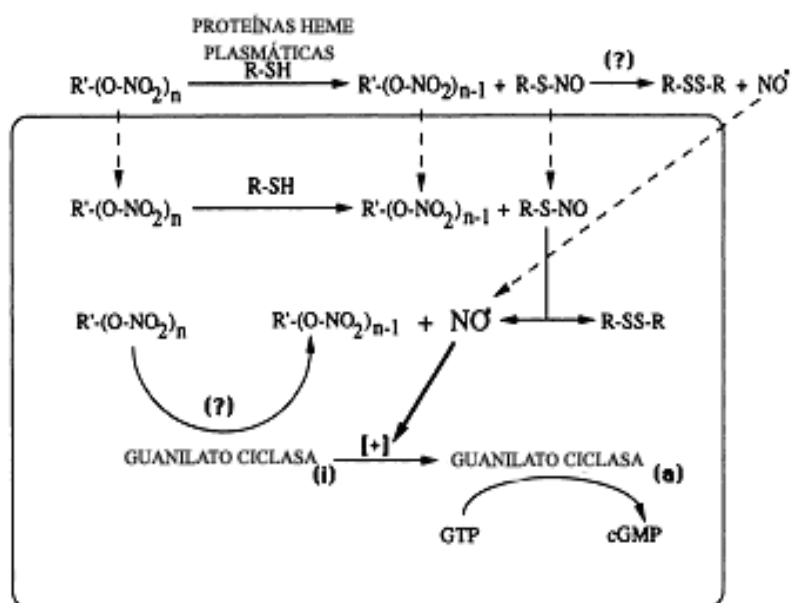
<sup>154</sup> Arauz-Pacheco C. y col. *Am. J. Hypertens*. 1995; v.8, n.4, Part 2, p.44A.

<sup>155</sup> Ahlner J. y col. *Pharmacol Rev*. 2005; v.43, n.3, p.351-423.



## Efectos metabólicos

Los nitratos orgánicos como el 5-mononitrato de isosorbide, son donadores de NO después de bioconversión enzimática, de tal forma, que permiten restaurar los niveles basales tanto de prostaglandinas como de NO, siendo usados principalmente en el tratamiento de la isquemia miocárdica.<sup>156</sup> El NO generado restaura la sensibilidad a la insulina.<sup>157</sup>



**Figura 12.** Actividad metabólica en la acción relajante de músculo liso vascular de esteres de nitrato orgánicos. En presencia de proteínas plasmáticas, grupo heme y tioles, los esteres de nitrato orgánicos pueden ser metabolizados a nitrosotioles y posiblemente a NO en la sangre. Se sugiere que los metabolitos incluyendo el NO, pueden penetrar la membrana plasmática al interior de las células del músculo liso. Los esteres también pueden entrar a estas células y sufrir biotransformación produciendo NO, activador de la guanilato ciclasa soluble y producción de GMPc. La figura muestra una ruta hipotética de formación de NO desde los esteres a través del metabolismo de la guanilato ciclasa. (Siglas: R-SH: compuestos de tiol, NO: óxido nítrico, R-S-NO: compuestos nitrosotiol, R'-(O-NO<sub>2</sub>)<sub>n</sub>: ésteres de nitrato orgánicos, R'-(O-NO<sub>2</sub>)<sub>n-1</sub>: ésteres de nitrato orgánicos desnitrosados, R-SS-R: productos disulfuro, i: enzima inactivado, a: enzima activado). (Reproducido de <sup>158</sup>)

## DIURÉTICOS (Furosemda)

Debido a su alta eficacia, trabajaremos específicamente los diuréticos de asa o inhibidores del simporte de Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> 2Cl<sup>-</sup> en la rama ascendente del asa de Henle, cuyo principal representante es la furosemda. Detienen el transporte de sal en este segmento de la nefrona e inhibiendo la resorción de Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>, en definitiva, generan prominente excreción urinaria y de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>.<sup>159</sup>

Con tratamiento crónico se reduce la diuresis y la natriuresis, por el incremento compensatorio de la reabsorción tubular de sodio, lo cual minimiza el volumen diurético inducido. Los niveles de renina y aldosterona se ven aumentados, con disminución de la

<sup>156</sup> Mollace V. y col. *Pharmacol Rev.* 2005; v.57, p.217-52.

<sup>157</sup> Desurik R. y col. *Bratisl Lek Listy.* 2005, v.106, n.8-9, p.252-6.

<sup>158</sup> Ahlner J. y col. *Pharmacol Rev.* 2005; v.43, n.3, p.351-423.

<sup>159</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

excreción de electrolitos, exceptuando el potasio, del cual se ve disminuida su concentración a nivel plasmático y de músculo esquelético, llevando a la hipocalcemia.<sup>160,161</sup>

#### Efectos metabólicos

Usando ratones ob/ob en ayuno, se evaluó el efecto de inyección intraperitoneal de furosemida (200 mg/kg) sobre el metabolismo de los carbohidratos, encontrándose hiperglicemia aguda bajo condiciones de ayuno dos días después de la administración, e intolerancia a la glucosa. En islotes pancreáticos de ratón, tratados con esta misma dosis dos días antes de la experimentación *in vitro*, mostraron una reducción de la liberación de insulina mediada por glucosa, dos días después de la exposición. Por tanto se asume que la furosemida tiene un agudo, severo y prolongado efecto sobre el metabolismo de carbohidratos en ratones ob/ob, con un efecto diabetogénico debido a la reducción en la secreción de insulina.<sup>162</sup>

En el efecto de la furosemida en la sensibilidad de los depósitos de glucosa a la insulina, usando músculo soleus de rata *in Vitro*, pudo medirse niveles basales de insulina y transporte de glucosa por determinación del flujo de 3-O-metil-d-glucosa. Se encontró que la furosemida disminuye significativamente los niveles fisiológico y máximo de insulina, concluyendo que a pesar de que la furosemida es considerada como uno de los diuréticos con menor impacto en la homeostasis de la glucosa, puede deteriorar el control glicémico desarrollando resistencia periférica a la insulina e inhibiendo el proceso de transporte de glucosa. También cita que la furosemida reduce la glicólisis en células de riñón en rata y conejo, y en eritrocitos humanos.

Mediante estudios previos con adipocitos de rata, se mostró que la furosemida inhibe el transporte de glucosa por directa inactivación de las proteínas del transportador. Esto es corroborado con los resultados del estudio, ya que la glucosa inactiva el transportador GLUT4 de glucosa, después del estímulo de la membrana con insulina.<sup>163</sup>

Se intenta explicar el efecto hiperglicémico de la furosemida y de otros diuréticos, como un efecto secundario a la reducida utilización de glucosa, reducida eficacia de la insulina o glucogenolisis secundaria a la liberación de catecolaminas inducida por la diuresis. Sin embargo, se plantea que la hiperglicemia y la diuresis inducidas por la furosemida podrían no estar asociadas; y que de hecho, los hallazgos de un deterioro en la liberación de insulina al estímulo con glucosa en los islotes pancreáticos y la intolerancia a la glucosa *in vivo*, son posiblemente debidos al daño en la secreción de insulina.<sup>164</sup>

Rohifing y Brunzell plantean que la furosemida causa alteraciones lipídicas en plasma, aumentando el LDL-C en plasma, sin cambios en los niveles de TG, colesterol total y C-HDL.<sup>165</sup>

Xu y col. en 2006, mencionan que la furosemida y el diazóxido, inhiben la producción de citocinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$  y la IL-6.<sup>166</sup>

#### ANTIAGREGANTES PLAQUETARIOS (Ácido acetilsalicílico, AAS)

De forma general el AAS inhibe la ciclooxigenasa (COX) como mecanismo analgésico antiinflamatorio, ejerciendo su acción por acetilación de la enzima. Las plaquetas son sensibles a la inactivación irreversible de las COX mediada por aspirina, debido a su nula

<sup>160</sup> Hill G.E. y col. *Anesth Analg.* 1978; v.57, p.417-21.

<sup>161</sup> Smith F.G. y col. *Pediatr. Nephrol.* 2000; v.14, p.916-21.

<sup>162</sup> Sandstrom PE., Sehlin J. *Eur. J. Pharmacol.* 1988; v.147, p.403-9.

<sup>163</sup> Dimitriadis G. y col. *Eur. J. Endocrinol.* 1998; v.139, p. 118-22.

<sup>164</sup> Jacobs D.B. y col. *J. Clin. Invest.* 1984; v.74, p.1679-85.

<sup>165</sup> Rohifing J.J., Brunzell J.D. *The West. J. Med.* 1986; v.145, p.210-8.

<sup>166</sup> Xu B. y col. *J. Hypertens.* 2006; v.24, p.915-22.

capacidad de síntesis de proteínas, de manera tal que no regeneran la enzima, pudiendo permanecer inhibida durante el tiempo de vida de las plaquetas (8 a 11 días). Motivo por el cual se produce menor formación de tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), incrementando el tiempo de hemorragia y de coagulación.<sup>167</sup>

### Efectos Metabólicos

Entre las múltiples intervenciones del AAS en los procesos metabólicos está el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, que puede inhibir reacciones que dependen del adenosintrifosfato (ATP). Ocasiona incremento en la captación de oxígeno y producción de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), generando agotamiento del glucógeno hepático y muscular.

Dosis elevadas de salicilatos, del orden utilizado para el tratamiento de la artritis reumatoide (4 a 5 g/día), pueden ocasionar hiperglicemia y glucosuria, agotando las reservas de glucógeno en músculo e hígado, situación que se explica por la liberación de adrenalina.

En el metabolismo graso, los salicilatos en dosis altas (4 a 5 g/día), disminuyen la lipogénesis al bloquear parcialmente, la acetilación de ácidos grasos. Además, inhiben la lipólisis estimulada por adrenalina y desplazan ácidos grasos de cadena larga de las proteínas plasmáticas. Incrementan la captación de ácidos grasos por músculo, hígado y otros tejidos; aumentando igualmente su oxidación, disminuyendo el nivel plasmático de ácidos grasos libres, fosfolípidos y colesterol.<sup>167</sup>

Cline M.J. y Williams H.E. de la Universidad de California en el año 1969, plantean que después de la administración continua de AAS en dosis de 10 a 20 g, el nivel de glucemia aumenta en personas normales. Sin embargo, en diabéticos sucede todo lo contrario, observando disminución de la concentración sanguínea de glucosa en ayunas, que favorece la tolerancia a la hexosa, sin definir el mecanismo por el cual ocurre, pero se sabe que no es por mayor liberación de insulina, ni debido al aumento de la excreción renal de glucosa (glucosuria), ni tampoco por absorción gastrointestinal disminuida de esta; podría deberse al aumento en la captación de glucosa a nivel periférico.

Otros factores que ayudan a explicar el efecto hipoglicémico, incluye la habilidad del AAS para incrementar la glicólisis en los tejidos, además de disminuir los niveles de glucosa y la síntesis de glucógeno a partir de precursores no carbohidratos

En sujetos normales la intoxicación aguda por AAS causa hiperglicemia, quizás debido a efectos directos del fármaco en la médula y corteza suprarrenales, generando la liberación de epinefrina de la médula, la cual interfiere con el metabolismo de la glucosa al estimular la glucogenolisis hepática.<sup>168</sup>

Quilley J. menciona que en ratas mantenidas durante tres semanas con dieta rica en glucosa y el salicilato (glucosa 10% y AAS 100 mg/kg\*día), la aspirina previene el estrés oxidativo que se presenta por el exceso de glucosa, la hiperglicemia y el aumento de la presión sanguínea, atribuido a acción reductora de la IR, de la formación de superóxido y del estrés oxidativo. Efectos benéficos se promueven la hipótesis del AAS como captador de radicales superóxido, acción que reduce la generación de estas especies en macrófagos y neutrófilos, por inhibición de la cicloxigenasa responsable de la generación de ROS; sin embargo, se plantea que AAS también induce el deterioro de sistemas antioxidantes.<sup>169,170</sup>

---

<sup>167</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>168</sup> Cline M.J., Williams H.E. *California Medicine*. 1969; v.110, n.5, p.410-22.

<sup>169</sup> El Midaoui A. y col. *J. Hypertens*. 2002; v.20, p.1407-12.

<sup>170</sup> Quilley J. *J. Hypertens*. 2002; v.20, p.1279-81.

Se ha establecido que los salicilatos previenen la IR inducida por lípidos en roedores, gracias a la interrupción generada en la vía inflamatoria. El pre-tratamiento con 1 gramo de AAS y tres dosis posteriores (una cada 8 horas) para un total de 4 gramos en humanos, también atenúa esta resistencia. Pero aun cuando la IR está asociada con incremento de los marcadores inflamatorios (IL-6 y CRP) y reducción de la adiponectina; el efecto benéfico del salicilato no está acompañado por cambios en los marcadores inflamatorios, ni en el de adiponectina o sus oligómeros.

Los ácidos grasos no esterificados (NEFA) no son afectados por AAS. Se sugiere que los efectos del salicilato en la resistencia a la insulina inducida por lípidos, están más relacionados con objetivos moleculares tales como el inhibidor heterocigoto de la cinasa  $\beta$  del factor nuclear de transcripción  $\kappa$ B - NF $\kappa$ B (IKK $\beta$ ) o la cinasa N-terminal c-Jun, que evitan la acumulación de ROS.<sup>171</sup>

### HIPOLIPEMIANTES (Simvastatina)

Son estructuralmente análogos del reactivo intermediario producido por el enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA (HMG-CoA) reductasa, sustancias muy efectivas principalmente reduciendo las LDL. Contribuyen con la reducción del estrés oxidativo y la inflamación vascular, incrementando la estabilidad de las lesiones ateroscleróticas.

HMG-CoA reductasa media el primer paso en la biosíntesis de esteroides, por lo cual los análogos del reactivo intermediario, crítico en la síntesis de colesterol, intervienen en la síntesis de mevalonato por influencia en este enzima. Estos análogos causan inhibición enzimática parcial, interrumpiendo la síntesis de isoprenoides. La alta afinidad de los inhibidores de la reductasa sobre los receptores de LDL, incrementan su catabolismo y la depuración hepática de precursores de LDL, durante el efecto de primer paso. También, pueden producir modesta reducción de TG y ligero aumento de HDL.<sup>172,173</sup>

### Efectos Metabólicos

Según Ishikawa M. y col., las estatinas pueden tener efecto benéfico en la resistencia periférica a la insulina, protegiendo así contra la diabetes, pero también se ha comentado su efecto inhibitorio sobre la secreción de insulina estimulada por la glucosa.

El estudio mostró, que estatinas lipofílicas como la simvastatina, incrementan la secreción basal de insulina en células MIN6 (línea de células  $\beta$  murinas). La secreción con estas estatinas no fue incrementada bajo alta concentración de glucosa, y pudo reconocerse que la citotoxicidad por alta concentración de estatinas lipofílicas, lleva a excreción de insulina de los gránulos que la contienen, estableciéndose que el crecimiento celular y la viabilidad de estas células son dañados por las estatinas. Es posible que las estatinas dañen la secreción de insulina por efecto citotóxico, inhibición del HMG-CoA reductasa o ambas. La simvastatina altera la secreción de insulina estimulada por glucosa, por bloqueo de los canales L de calcio en células  $\beta$  aisladas de rata, pero en el estudio ésta secreción no fue inhibida por estatinas.<sup>174</sup>

El estudio de Forst T., halló que el 16.8% de los pacientes con riesgo cardiovascular incrementado, presentan daño en la tolerancia a la glucosa, y el 86.4% manifiestan resistencia a la insulina.<sup>175</sup>

---

<sup>171</sup> Mohlig M. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; v.91, p.964-7.

<sup>172</sup> Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology. 2007, 10 Edt., p.566-7, the Mc Graw Hill Companies.

<sup>173</sup> Meittinen T.A., Gylling H. *Clin. Chim. Acta.* 2007; v.379, p.53-8.

<sup>174</sup> Ishikawa M. y col. *J. Atheroscler. Thromb.* 2006; v.13, n.6, p.329-35.

<sup>175</sup> Forst T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.491-6.

Estudios realizados por Sasaki J. y col. sobre el deterioro del control glicémico, bajo el tratamiento con estatinas, permiten ver que la provastatina (40 mg/día) protege del desarrollo de DM2. Estudios con atorvastatina (80 mg/día), sugieren que deterioro del metabolismo de la glucosa y elevación de la HbA1c > 6%, puede deberse a las altas dosis, porque otros estudios con 10 mg/día no presentan diferencia frente al placebo. Para la simvastatina (40 mg/día), no se ha hallado efecto medible del riesgo relacionado con el tratamiento.

El deterioro del control glicémico por las estatinas, podría deberse a la reducción de metabolitos como isoprenoide, farnesilpírofosfato y ubiquinona, que son normalmente producidos durante la síntesis de colesterol a partir de acetil-CoA, vía ácido mevalónico. El isoprenoide incrementa la captación de glucosa, al regular el transporte a la membrana por el GLUT4. La supresión de la biosíntesis de ubiquinona, factor esencial en el sistema de transferencia de electrones en la mitocondria, puede impedir la producción de ATP en células  $\beta$  pancreáticas e impedir la liberación de insulina. Las estatinas liposolubles, como la simvastatina, entran fácilmente en células extrahepáticas y pueden inhibir la síntesis de proteína-isoprenoide, atenuando como consecuencia la acción de la insulina. La simvastatina inhibe el incremento intracelular de  $Ca^{2+}$  inducido por glucosa en las células  $\beta$ .

Las estatinas como inhibidores del HMG-CoA reductasa, incrementan la expresión de receptores de las LDL en hígado, reduciendo consecuentemente los niveles de C-LDL y con ello el riesgo cardiovascular. Sus efectos pleiotrópicos restringen la progresión de la aterosclerosis, inhibiendo la formación de trombos, aumentando el efecto antioxidante, revertiendo el daño celular endotelial vascular, ejerciendo acción antiinflamatoria y estabilización de placas. Estos efectos varían dependiendo de la clase de estatina, ya que difieren en estructura y propiedades físicas, que inducen variación en las propiedades farmacocinéticas, efectos pleiotrópicos e interacción con fármacos.<sup>176</sup>

La simvastatina no tiene efecto sobre el control glicémico en individuos diabéticos, pero si reduce el nivel de TG en un 35%, según la investigación de Isley W.L. y col. El efecto de las estatinas en el metabolismo de FFA es controvertido, ya que la reducción del nivel de FFA en hígado y plasma de ratas depende de la dosis usada. También se cita reducción de FFA en el tratamiento de pacientes diabéticos con simvastatina a altas dosis, con reducción de la concentración plasmática, sin cambios en el flujo, indicando la influencia en la síntesis y secreción de VLDL.<sup>177</sup>

Bulcão C. y col., describen que el beneficio de las estatinas gira en torno de la reducción de lípidos circulantes C-LDL y LDL oxidadas, con aumento del contenido de colágeno en la matriz de las placas, minimizando los procesos aterosclerótico y tromboembólico, y se asocian las estatinas y la adiponectina con efectos antiinflamatorios. La simvastatina reduce la CRP, indentificada como factor predictor independiente de la enfermedad cardiovascular.<sup>178,179</sup>

La disfunción del endotelio vascular, principal blanco en la combinación de DM2, hipertensión y dislipidemia, se manifiesta con incapacidad del NOS, para producir NO en células endoteliales expuestas a elevada concentración de glucosa. (Fig. 15)<sup>180, 181</sup>

<sup>176</sup> Sasaki J. y col. *J. Atheroscler. Thromb.* 2006; v.13, n.3 p.123-9.

<sup>177</sup> Isley W.L. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.758-62.

<sup>178</sup> Bulcão C. y col. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2007; v.40, n.2, p.229-35.

<sup>179</sup> Cucurullo C. y col. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.2716-23.

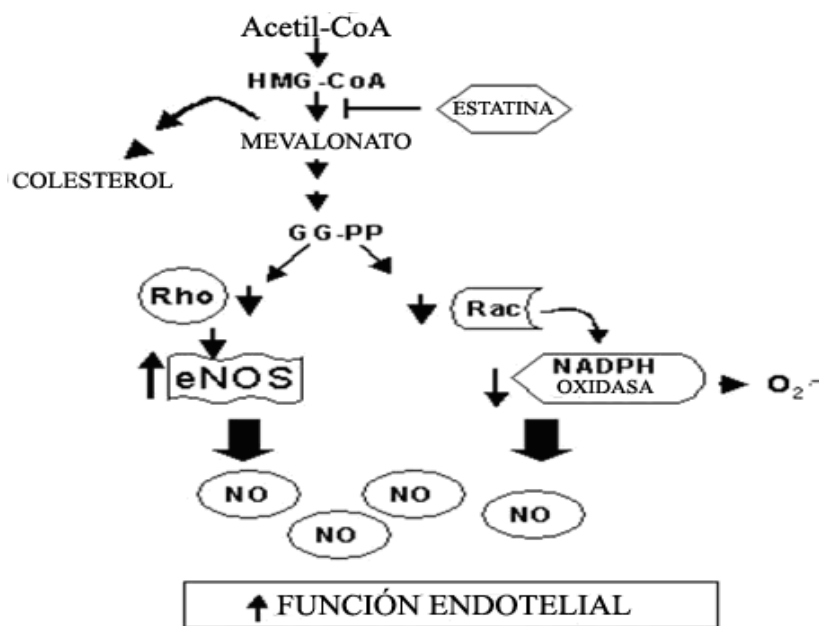
<sup>180</sup> Tawfik H.E. y col. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; v.319, p.386-95.

<sup>181</sup> Haas M.J. y col. *Diabetes.* 2006; v.55, p.274-9.

Mitropoulos K.A. y col. indica, que las estatinas reducen los depósitos intracelulares de colesterol y regulan los receptores de LDL en las células superficiales, lo cual incrementa la depuración y catabolismo de partículas LDL y VLDL conteniendo apolipoproteína B (apoB). Se demostró que la simvastatina reduce el colesterol total y C-LDL, los niveles de apoB, TG y partículas VLDL e IDL (lipoproteínas de densidad intermedia), generando un pequeño incremento en el nivel de C-HDL y apoA.<sup>182</sup>

Según Ludwing S. y col., el tratamiento con 20 mg/día de simvastatina por más de 12 semanas, normaliza la elevación del fragmento de protrombina F1+2 y del PAI-1 en la DM2. Reduce el colesterol total, C-LDL y TG, pero no altera el C-HDL, reduce la glucosa sanguínea en ayunas o la HbA1c, protegiendo contra eventos vasculares trombóticos. La simvastatina inhibe la expresión de PAI-1, inducida por el TNF- $\alpha$  en células endoteliales peritoneales.<sup>183</sup>

La hiperglicemia e hipertrigliceridemia posprandial en pacientes diabéticos, tiene efecto acumulativo determinante del aumento de moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y selectina-E en plasma, que puede ser mediado por el estrés oxidativo y acompañado por significativo incremento de nitrotirosina, aspectos que sirven como predictores del desarrollo de aterosclerosis, como fue mostrado por Ceriello A. y col. Las condiciones anteriores son significativamente mejoradas por el tratamiento con simvastatina.<sup>184</sup>



**Figura 13.** Mecanismo propuesto por el cual la simvastatina reduce la diabetes inducida por la disfunción endotelial. (Reproducción de<sup>185</sup>)

## HIPOGLUCEMIANTES ORALES (Tiazolidindionas, Biguanidas y Sulfonilureas)

En vista de que han sido plenamente estudiados, confirmado y publicado, los efectos metabólicos de los citados hipoglucemiantes, en este documento solo se hará una ligera reseña respecto a cada uno de ellos.

<sup>182</sup> Mitropoulos K.A. y col. *Eur. Heart J.* 1997; v.18, p.235-41.

<sup>183</sup> Ludwing S. y col. *Diabetes Res. Clin Pract.* 2005; v.70, p.110-8.

<sup>184</sup> Ceriello A. y col. *Diabetes.* 2004; v.53, p.701-10.

<sup>185</sup> Tawfik H.E. y col. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; v.319, p.386-95.

## THIAZOLIDINDIONAS - TZD (Rosiglitazona)

Son compuestos antihiper glucemiantes en individuos y animales resistentes a la insulina y diabéticos, sin causar hipoglucemia incluso en individuos normales.<sup>186</sup> Ligandos y reguladores de la acción del PPAR $\gamma$ , a través del cual modulan el metabolismo de lípidos y glucosa, la señal de transducción de la insulina y la diferenciación de adipocitos.<sup>187,188,189</sup>

La rosiglitazona protege contra la disfunción contráctil miocárdica, inducida por isquemia y reperfusión, todo mediado por la fosforilación y activación de la NOSe.<sup>190,191</sup>

### Efectos Metabólicos

Las TZD y entre ellas la rosiglitazona, incrementan la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos e hígado, además reducen la glucosa plasmática y la HbA1c, preservando la masa de células  $\beta$  y reduciendo los cambios degenerativos en ellas.<sup>192,193,194,195,196,197,198,199</sup>

Producen ganancia de peso estimulando la adipogénesis, alteran el metabolismo lipídico (con aumento de C-LDL), estimulan el uso de FA, reducen el nivel de glicerol.<sup>200,201,202</sup>

Cadoudal T. y col. en 2007 observaron que las TZD tienen poco o nulo efecto en la lipólisis basal en roedores y humanos, reduciendo el nivel plasmático de NEFA (posiblemente, por el incremento de la depuración de FA, vía esterificación y/u oxidación, pudiendo suscitarse un ciclo de lipólisis y reesterificaciones simultáneas, creando un importante mecanismo de homeostasis energética). En cultivos de tejido adiposo subcutáneo humano, se ha evidenciado que la rosiglitazona induce la producción de glicerol-3-fosfato y estimula la expresión de fosfoenolpiruvato carboxilasa, enzima involucrado en la gliceroneogénesis en tejido adiposo, principal fuente de reesterificación de FFA y síntesis de triacilglicerol. Lo anterior plantea, el mecanismo clave de las TZD para suprimir la liberación de FA a la circulación y al hígado, la reducción de la dislipidemia por su reesterificación y la gluconeogénesis.<sup>203</sup>

### Efectos sobre la adiponectina

Ding G. y col., demostraron la expresión de adiponectina, y sus receptores, en los cardiomiocitos ventriculares de adulto, así como el incremento en su número por activación del PPAR $\gamma$ . Al parecer, la adiponectina cardiaca es esencial para el mantenimiento de la

<sup>186</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>187</sup> Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology. 2007, 10 Edt., p.688-9, the Mc Graw Hill Companies.

<sup>188</sup> He W. y col. *PNAS*. 2003; v.100, n.26, p.1512-7.

<sup>189</sup> Albertini J.P. y col. *Atherosclerosis*. 2007; v.195, p.e159-66.

<sup>190</sup> Gonon A. y col. *Basic Res. Cardiol*. 2007; v.107, p.80-9.

<sup>191</sup> Nissen S.E. y Wolsky K. *N. Engl. J. Med*. 2007; v.356, p.1-15.

<sup>192</sup> Teranishi T y col. *Metab. Clin. Exp*. 2007; v.56, p.1418-24.

<sup>193</sup> Hanefeld M. y col. *Nutrition Metab. Cardiovascular Diseases*. 2007; v.17, p.13-23.

<sup>194</sup> Sharma P.K. y col. *Clin. Endocrinol*. 2006; v.65, p.722-8.

<sup>195</sup> Tilg H. y Moschen A.R. *Nature*. 2006; v.6, p.772-83.

<sup>196</sup> Eguchi K. y col. *Hipertens. Res*. 2007; v.30, p.23-30.

<sup>197</sup> Karlsson H.K.R. y col. *Diabetes*. 2005; v.54, p.1459-67.

<sup>198</sup> Phillips S.A. y col. *Diabetes*. 2003; v.52, p.667-74.

<sup>199</sup> Iozzo P. y col. *Diabetes Care*. 2003; v.26, p.2069-74.

<sup>200</sup> Psaty B.C. and Furberg C.D. *N. Engl. J. Med*. 2007; v.356, Editorial, p.1-3.

<sup>201</sup> Wang P. y col. *Diabetologia*. 2007; v.50, p.654-65.

<sup>202</sup> Bahia L. y col. *Atherosclerosis*. 2007; v.195, p.138-46

<sup>203</sup> Cadoudal T. y col. *Diabetologia*. 2007; v.50, p.666-75.

función en pacientes con síndrome metabólico, ya que parece servir como regulador del metabolismo energético miocárdico.<sup>204</sup>

Sharma P.K. y col., observaron aumento de la adiponectina sérica y recuperación de la sensibilidad a la insulina, de forma dosis dependiente con pioglitazona, rosiglitazona y troglitazona; ello sugiere que el efecto de los agonistas PPAR $\gamma$  reduce el contenido de grasa hepática con aumento de la concentración de adiponectina. No se encontró relación entre el aumento de adiponectina por las TZD, con el cambio en el nivel de glucosa en ayunas y la HbA1c, indicando que la recuperación del control de la glucosa, no es el mecanismo que produce el aumento de adiponectina plasmática. La mejor sensibilidad a la insulina producida por TZD, no fue proporcional al aumento de adiponectina, indicando que el aumento de la adiponectina no es mecanismo exclusivo en la recuperación de la sensibilidad a la insulina.<sup>205</sup>

En pacientes con DM2, Rasouli N. y col., mostraron que las TZD (pioglitazona y rosiglitazona) incrementan el nivel de adiponectina plasmática. Proponen mejoría en la sensibilidad a la insulina, mediado por los PPAR $\gamma$  a través del aumento en la expresión de adiponectina en el tejido adiposo, seguido por el efecto periférico de la citocina sobre la oxidación lipídica y recuperación de la acción de la insulina en músculo e hígado.<sup>206</sup> Además, las TZD incrementan la adiponectinemia tanto en DM2 e individuos no diabéticos, modelos murinos de obesidad y de DM2 con ratones db/db.<sup>207</sup>

### BIGUANIDAS (Metformina)

La metformina es un antihiper glucemiante, que no media la liberación de insulina ni produce hipoglucemia, y parece aumentar la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos.<sup>208</sup>

Su mecanismo permanece incierto, la acción de reducción de la glucosa sanguínea no depende del funcionamiento de las células  $\beta$  pancreáticas. El mecanismo propuesto tiene varias características: 1) reducida gluconeogénesis hepática y renal; 2) retardada absorción gastrointestinal de glucosa, con aumentada conversión de glucosa a lactato por enterocitos; 3) estimulación directa de glicólisis en tejidos, con incrementada remisión de glucosa sanguínea y 4) reducción del nivel plasmático de glucagón.<sup>209, 210</sup>

### Efectos Metabólicos

Se ha sugerido que la metformina puede promover cambios antiaterotogénicos, con significativa reducción de LDL, dependiendo de su acción hipoglicemiante y sensibilizante a la insulina. Se ha descrito la activación del AMPK por acción directa de la metformina en células musculares, enzima que incrementa la aparición de LPL en la superficie endotelial.<sup>211,212,213</sup>

<sup>204</sup> Ding G. y col. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2007; v.43, p.73-84.

<sup>205</sup> Sharma P.K. y col. *Clin. Endocrinol.* 2006; v.65, p.722-8.

<sup>206</sup> Rasouli N. y col. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006; v.290, p.E42-6.

<sup>207</sup> Phillips S.A. y col. *Diabetes.* 2003; v.52, p.667-74.

<sup>208</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>209</sup> Katzung B.G. *Basic and clinical pharmacology.* 2007, 10 Edt., p.697, the Mc Graw Hill Companies.

<sup>210</sup> Iozzo P. y col. *Diabetes Care.* 2003; v.26, p.2069-74.

<sup>211</sup> Ohira M. y col. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2007; v.78, p.34-41.

<sup>212</sup> Teranishi T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.1418-24.

<sup>213</sup> Karlsson H.K.R. y col. *Diabetes.* 2005; v.54, p.1459-67.



Induce pérdida de peso y de masa grasa, baja concentración de FFA, considerándose que su actividad en la resistencia a la insulina depende más de su acción hepática que en el tejido adiposo<sup>214,215,216,217,218</sup> y mejor nivel de HbA1c.<sup>219,220,221,222,223,239</sup>

En individuos con DM2 la metformina, generalmente, mejora el metabolismo lipídico con reducción de triglicéridos, colesterol total y C-LDL y, en algunos casos, produce modesta recuperación del nivel de C-HDL, como ha sido publicado por James A.P. y col.<sup>224</sup> La grasa hepática es reducida por la rosiglitazona pero no por la metformina, el peso corporal es reducido por la metformina pero no por la rosiglitazona y el nivel de adiponectina no tuvo cambios con la metformina, ya que parece ser una situación relacionada con la reducción de la grasa hepática, como determinó Tiikainen M. y col.<sup>224</sup>

#### Efectos sobre la Adiponectina

El nivel de adiponectina circulante no muestra variaciones después de la administración de metformina, según Ohira M. y col.<sup>225</sup>, aunque, por el contrario, podría suprimir su producción y liberación a través de la estimulación del AMPK.<sup>226</sup>

El estudio en 2005 de Fujita H. y col. demostró que, a pesar de inhibir la ganancia de peso, metformina no incrementa el nivel plasmático de adiponectina, lo que sí sucede normalmente con la reducción de peso. También se ha planteado que el aumento de la concentración plasmática de metformina lleva a supresión de la síntesis de adiponectina en tejido adiposo<sup>227</sup> Phillips S.A. y col., confirmaron que metformina no afecta el nivel de adiponectina, permitiendo reducir el nivel de insulina, sin afectar esta citocina.<sup>228</sup>

#### SULFONILUREAS - SU (Glibenclamida)

El agente escogido para la evaluación corresponde a un integrante de la segunda generación de las SU, la glibenclamida.

Son sustancias que estimulan la liberación de insulina en las células  $\beta$  pancreáticas, motivo por el que pueden causar hipoglucemia. Igualmente, pueden aumentar la insulinemia al reducir su depuración hepática. En los primeros meses de tratamiento agudo con SU, existe aumento del nivel plasmático de insulina en ayunas, así como de su respuesta a la exposición de glucosa.<sup>229,230</sup>

---

<sup>214</sup> Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology. 2007, 10 Edt., p.697, the Mc Graw Hill Companies

<sup>215</sup> Bulcão C. y col. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2007; v.40, n.2, p.229-35.

<sup>216</sup> Muntoni S. *Diabetes Care.* 1999; v.22, p.179.

<sup>217</sup> Ran T. y col. *J. Mol. Endocrinol.* 2006; v.37, p.175-83.

<sup>218</sup> Muntoni S. *Diabetes Care.* 2006; v.29, p.751-2.

<sup>219</sup> Iozzo P. y col. *Diabetes Care.* 2003; v.26, p.2069-74.

<sup>220</sup> James A.P. y col. *Diabetes Obes. Metab.* 2005; v.7, p.381-9.

<sup>221</sup> Teranishi T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.1418-24.

<sup>222</sup> Araki T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.996-1001.

<sup>223</sup> Natali A. y col. *Diabetes Care.* 2004; v.27, p.1349-57.

<sup>224</sup> Tiikainen M. y col. *Diabetes.* 2004; v.53, p.2169-76.

<sup>225</sup> Ohira M. y col. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2007; v.78, p.34-41.

<sup>226</sup> Sharma P.K. y col. *Clin. Endocrinol.* 2006; v.65, p.722-8.

<sup>227</sup> Fujita H. y col. *Endocrine J.* 2005; v.52, n.4, p.427-33.

<sup>228</sup> Phillips S.A. y col. *Diabetes.* 2003; v.52, p.667-74.

<sup>229</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>230</sup> Dobbins R.L. y col. *J.Clin. Invest.* 1998; v.101, p.2370-6.

Se han propuesto dos mecanismos; la inhibición de la liberación de glucagón, y su comportamiento como insulín-secretagogos fisiológicos, al unirse y bloquear canales de  $K^+$  sensibles al ATP en tejidos pancreáticos.<sup>231</sup>

#### Efectos Metabólicos

Con el uso de SU en el tratamiento de la DM2, la capacidad secretora de insulina de las células  $\beta$  va decreciendo durante el tratamiento, y su eficacia falla frecuentemente con el paso del tiempo. Por esto, la glibenclamida comúnmente incrementa el nivel de insulina y de péptidos precursores, pero empeora la resistencia a la hormona. Dosis mayores de 10 mg/día, ofrecen baja o ninguna mejoría en el control glicémico.<sup>232,233</sup>

Los principales inconvenientes del uso de sulfonilureas son: la hipoglicemia, la ganancia de peso y el agotamiento de las células  $\beta$  por su efecto hiperinsulinémico.<sup>234,235</sup>

Los estudios de Skrapari I. y col. y de Hanefeld M. y col., encontraron que la terapia de la DM2 con sulfonilureas mejora el perfil lipoproteico, aunque diversas alteraciones del metabolismo lipídico y lipoproteico no son afectadas. Mostrando que la administración de glibenclamida reduce la hipertrigliceridemia posprandial en la DM2, evitando así la dislipidemia con bajos niveles de HDL, con LDL densas, e intolerancia grasa posprandial.<sup>236,237,238,239</sup>

#### Efectos sobre la Adiponectina

El aumento de los niveles de adiponectina tras la administración de glimepirida fue demostrada por Koshiba K. y col., con un fuerte efecto antiaterosclerótico en las paredes vasculares, aumento de la sensibilidad a la insulina en músculo esquelético e hígado, y reducción del nivel de citocinas inflamatorias y de parámetros ateroscleróticos.<sup>240</sup>

Un amplio rango de moléculas lipofílicas puede interactuar con  $PPAR\gamma$ . Entre ellas, las sulfonilureas, al unirse a su receptor en la membrana plasmática de las células  $\beta$  pancreáticas. Adicionalmente, como se ha visto con glimepirida y glibenclamida, tienen efecto potenciador de la acción de la insulina en los adipocitos, sin que se haya dilucidado su mecanismo. Aunque es conocido que glibenclamida induce la actividad transcripcional del  $PPAR\gamma$ , se liga directamente al receptor de manera competitiva. Como agonistas parciales del  $PPAR\gamma$  aumentan la producción de adiponectina en los adipocitos, incrementando significativamente el nivel del RNAm de adiponectina, objetivo genético en los adipocitos 3T3-L1. Esto demuestra que glimepirida y glibenclamida actúan a través del receptor de sulfonilureas y el  $PPAR\gamma$ , incrementando potencialmente la secreción y la sensibilidad a insulina.<sup>241</sup>

El estudio de Inukai K. y col. 2005, ha analizado los elementos sensibles de la expresión de la familia de receptores PPAR (PPRE) en adipocitos 3T3-L1. La actividad  $PPAR\gamma$  es uno de los

---

<sup>231</sup> Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology. 2007, 10 Edt., p.694-6, the Mc Graw Hill Companies.

<sup>232</sup> Kerenyi Z. y col. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2004; v.63, p.213-23.

<sup>233</sup> Hanefeld M. y col. *Nutrition Metab. Cardiovascular Diseases.* 2007; v.17, p.13-23.

<sup>234</sup> Koshiba K. y col. *J. Med. Invest.* 2006; v.53, p.87-94.

<sup>235</sup> Müller G. y col. *Biochem. Pharmacol.* 1994; v.48, n.5, p.985-96.

<sup>236</sup> Hanefeld M. y col. *Nutrition Metab. Cardiovascular Diseases.* 2007; v.17, p.13-23.

<sup>237</sup> Skrapari I. y col. *Diabet. Med.* 2001; v.18, p.781-5.

<sup>238</sup> Shi H. y col. *FASEB J.* 1999; v.13, p.1833-8.

<sup>239</sup> Abo-Hashema K.A.H. y col. *J. Biol. Chem.* 1999-2000; v.274, n.50, p.35577-82.

<sup>240</sup> Koshiba K. y col. *J. Med. Invest.* 2006; v.53, p.87-94.

<sup>241</sup> Fukuen S. y col. *J. Biol. Chem.* 2005; v.280, n.25, p.23653-9.

PPRE, estimulado por glimepirida independientemente de su unión a los SUR, que no son expresados en el tejido adiposo. El estudio no evidenció influencia del tratamiento con glimepirida sobre la regulación de la expresión de adiponectina, concordando con experimentos previos en los que la activación PPAR $\gamma$  falla para inducir la expresión de adiponectina en células 3T3-L1 maduras y en ratones obesos.<sup>242</sup>

Por efecto de las SU, disminuyen la CRP del tejido adiposo, aunque Putz D.M. y col.<sup>243</sup> no encontraron efecto de SU (gliburida) ni de biguanidas (metformina) sobre la adiponectinemia. En contraste, en el trabajo de Phillips S.A. y col.<sup>244</sup> se cita que, tras 12 semanas de tratamiento con glimepirida la adiponectina incrementa, reduciendo la HbA1c de 8.4 a 6.9% y mejorando la resistencia a insulina. Se ha sugerido que al tratar la DM2 con SU, puede reducir la CRP sin necesidad de reducción del peso e incluso con su aumento.<sup>244</sup>

## TERAPIAS COMBINADAS

El estudio de Forst T. y col., confirmó que la estimulación PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  incrementan la expresión de receptores de adiponectina en macrófagos, con efecto terapéutico para evitar el desarrollo y progresión de la aterosclerosis. Además, se apreció aumento significativo de adiponectina plasmática (127%) con pioglitazona. Al asociar pioglitazona con simvastatina, incrementó la adiponectina en plasma al 166%, aunque en pacientes con DM2 tratados solo con simvastatina hubo una ligera pero significativa reducción del nivel de adiponectina.<sup>245</sup>

El estudio realizado por Derosa G. y col., con diabéticos tipo 2 tratados habitualmente con metformina y distribuidos de forma aleatoria para evaluar la influencia de la combinación con pioglitazona o rosiglitazona, el análisis de la presión sanguínea y de marcadores inflamatorios mostró que el control glicémico mejoró significativamente con la adición de cualquiera de las TZD, sin mostrar diferencia significativa entre ellas. También se confirmó lo observado en otros estudios: mejor efecto de pioglitazona sobre el perfil lipídico (TC= -9.8%, C-LDL= -6.9%, C-HDL= +9.1% y TG= -25.0%) que rosiglitazona (TC= +4.2%, C-LDL= +2.6% y TG= +1.7%). En ambos grupos también se encontró mejor presión sanguínea sistólica (reducida en 3%) y diastólica (reducida en 3.8%), con recuperación de la función endotelial, demostrado por la mejoría en los parámetros de inflamación. Todo se atribuyó al efecto de las TZD, ya que la metformina no ha sido vinculada con cambios en la presión sanguínea.<sup>246</sup>

En pacientes con DM2, la combinación de simvastatina con fármacos IECA o ARB incrementa el nivel de adiponectina y la sensibilidad a la insulina.<sup>247</sup> El diseño del estudio de Yin W.H. y col., establecido en una cohorte de pacientes con diabetes tipo 2 y dislipidemia, la evolución del tratamiento durante 8 semanas, con: 1) rosiglitazona y fenofibrato o 2) glibenclamida y atorvastatina una vez al día. El primer tratamiento aumentó de forma marcada el nivel plasmático de adiponectina, con importante incremento del C-HDL y reducción significativa del nivel de TG. El segundo logró mayor reducción del nivel de colesterol total y del C-LDL, con control glicémico comparable, sin alterar significativamente la adiponectinemia.<sup>248</sup>

<sup>242</sup> Inukai K. y col. *Biochem. Biophys. Res. Común.* 2005; v.328, p.484-90.

<sup>243</sup> Putz D.M. y col. *Metabolism.* 2004; v.53, n.11, p.1454-61.

<sup>244</sup> Phillips S.A. y col. *Diabetes.* 2003; v.52, p.667-74.

<sup>245</sup> Forst T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.491-6.

<sup>246</sup> Derosa G. y col. *Hypertens. Res.* 2007; v.30, 387-94.

<sup>247</sup> Bulcão C. y col. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2007; v.40, n.2, p.229-35.

<sup>248</sup> Yin W.H. y col. *Diabetes Metab.* 2006; v.32, p.229-35.

Los agonistas PPAR y las estatinas, ejercen efecto antiinflamatorio y protector vascular. Las TZD + fibratos, reducen los niveles circulantes de CRP, TNF- $\alpha$  o VCAM-1.

Se reconoce a los activadores PPAR como mediadores de la respuesta inflamatoria, pudiendo ejercer efecto antiinflamatorio y protector vascular. La comparación entre TDZ y SU se presenta en el estudio “Quartet”, que muestra que las terapias son equivalentes en la reducción de HbA1c; igualmente, en dicho estudio la terapia con SU+estatina produjo control glicémico comparable a la terapia PPAR, mostrando que las diferencias pueden deberse al control glicémico, antes que a efectos directos en lípidos y adipocitocinas.<sup>249</sup>

Huypens P. y col. en 2005, describieron que la acción sensibilizante a la insulina de metformina y TZD son mediadas por diferentes rutas metabólicas. Se ha visto que troglitazona aumenta la vía anabólica, llevando al aumento del tamaño de adipocitos; por su parte, metformina parece estimular la vía catabólica, resultando en reducción de los adipocitos. Las TZD incrementan la expresión del gen de adiponectina y los niveles circulantes de la citocina. Respecto a metformina, no actuaría en los niveles de adiponectina, sugiriéndose que los activadores del AMPK inhiben la síntesis y liberación de la adipocitocina. El efecto sensibilizante a la insulina de las TZD parece mediado por la elevación de adiponectina, y se asocia con el aumento de la lipogénesis y el tamaño de los adipocitos. En contraste, la metformina incrementa la lipólisis y reduce el depósito de TG en adipocitos, mientras su efecto sensibilizante a la insulina parece derivar de la activación del AMPK. El ribosido 5-aminoimidazol-4-carboxamida (AICAR), estimulador del AMPK, es un potente inhibidor de adipogénesis y de la expresión de PPAR $\gamma$  durante la diferenciación de adipocitos 3T3-L1. Esto indica diferentes mecanismos sobre la sensibilización a la insulina, a nivel del metabolismo y diferenciación de adipocitos, entre los agonistas PPAR $\gamma$  y activadores del AMPK. Además, este estudio mostró efectos opuestos entre estas clases de hipoglicemiantes, sobre la expresión y liberación de la adiponectina, confirmando lo citado en párrafos anteriores. En combinación con troglitazona, la metformina muestra ser más eficiente mejorando la sensibilidad a la insulina, el control de la glicemia y la función de células  $\beta$ , que la monoterapia con metformina.<sup>250</sup>

Estudios epidemiológicos en 2004 de Abbasi F. y col., han demostrado que el tratamiento combinado con SU y metformina de pacientes con DM2, frente a la monoterapia con metformina, incrementa la mortalidad tras el tratamiento prolongado, manifestando menor control glicémico y empeorando los factores de riesgo de múltiples enfermedades cardiovasculares. El efecto clínicamente más relevante del tratamiento con metformina, es la baja concentración de colesterol de lipoproteínas remanentes y reducción de la lipemia, que lleva a la baja concentración de TG.<sup>251</sup>

De acuerdo con el trabajo de Kerenyi Z. y col. en 2004, la combinación de agentes con mecanismos de acción complementarios, como es el caso de SU+TZD, en la que estos últimos agentes antidiabéticos mejoran la sensibilidad a la insulina en tejido adiposo, músculo esquelético e hígado, y las SU estimulan la secreción de insulina, resulta en reducción significativa de HbA1c, la glucosa plasmática en ayunas (FPG) y las complicaciones de la diabetes. Esta combinación en pacientes diabéticos con sobrepeso u obesos, mostró cambios en los parámetros lipídicos, con marcado aumento del colesterol HDL tras los primeros 1-2 años de terapia; el colesterol LDL no aumento después de seis meses de tratamiento. También se asoció a reducción de la concentración de FFA y TG en ayunas. Se considera que los

---

<sup>249</sup> Yin W.H. y col. *Diabetes Metab.* 2006; v.32, p.229-35.

<sup>250</sup> Huypens P. y col. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; v.518, p.90-5.

<sup>251</sup> Abbasi F. y col. *Metabolism.* 2004; v.53, n.2, p.159-64.

efectos de la rosiglitazona en la glicemia y sensibilidad a la insulina, pueden estar mediados por aumento en la captación y oxidación muscular de FFA. La retención de líquido con expansión del volumen plasmático es un efecto de las TZD y puede explicar asociación de TZD con anemia por hemodilución. El tratamiento con rosiglitazona y glibenclamida produjo una alta incidencia de edema (9.5%).<sup>252</sup>

La metformina tiene como efecto predominante la inhibición de la producción de glucosa hepática. En el trabajo de Seufert J. y col., las TZD reducen la resistencia a la insulina y promueven la captación periférica de glucosa, por esto funcionan muy bien como terapia combinada. Además, las TZD protegen la función de las células  $\beta$  pancreáticas.<sup>253</sup>

---

<sup>252</sup> Kerényi Z. y col. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2004; v.63, p.213-23.

<sup>253</sup> Seufert J. y col. *Clin. Ther.* 2004; v.26, p.805-18.

## OBJETIVOS

Considerando el valor diagnóstico/pronóstico de los niveles circulantes de adiponectina en la enfermedad vascular periférica, empleando el ratón como modelo experimental y muestras sanguíneas de humano que padecen estas patologías, tras un análisis retrospectivo de sus historias clínicas, se pretende:

### Objetivo General

Evaluar el efecto crónico con fármacos empleados en la patología cardiovascular (*isquemia coronaria, hipertensión*): antihipertensivos (IECA (enalapril), ARB (telmisartan),  $\beta$ -bloqueadores (metoprolol) y calcioantagonistas (amlodipino)), antianginosos (mononitrato de isosorbide), diuréticos (furosemida), antiagregantes plaquetarios (aspirina); *diabetes mellitus tipo 2*: hipoglucemiantes orales (TZD (rosiglitazona), biguanidas (metformina), SU (glibenclamida)); *hipercolesterolemia e hipetrigliceridemia*: hipolipemiantes (simvastatina), sobre los niveles circulantes de adiponectina en ratones CD1 y humanos.

### Objetivos Específicos

#### Análisis en modelo animal

Dada la amplia variedad de fármacos usados en el tratamiento de la resistencia a la insulina asociada con la enfermedad vascular periférica, la evaluación será realizada en dos fases, realizando los siguientes pasos para cada una de ellas:

1. Dado que la adiponectina facilita la oxidación de ácidos grasos, determinar los niveles circulantes de ácidos grasos libres, en los animales sometidos al tratamiento crónico con los fármacos citados.
2. Analizar la lipólisis basal y evocada con Forskolina, en los adipocitos obtenidos a partir de estos mismos animales.
3. Explorar la función insulino secretora en islotes aislados, de algunos de los grupos de animales tratados, bajo las citadas condiciones experimentales.
4. Correlacionar los niveles circulantes de adiponectina con los demás parámetros en estudio, para comprobar la posible influencia que puedan ejercer sobre la homeostasis glicémica, y así su repercusión en la patología coronaria.
5. Establecer la influencia del género, reproduciendo el citado diseño en ratones machos y hembras.

Fármacos de prueba en la primera fase: metoprolol, enalapril, amlodipino, furosemida, aspirina, 5-mononitrato de isosorbide.

Fármacos de prueba en la segunda fase: telmisartan, simvastatina, rosiglitazona, metformina y glibenclamida.

#### Análisis de muestras humanas e historia clínica

1. Determinar los niveles circulantes de ácidos grasos libres y glucosa, en los individuos participantes

2. Extraer de la historia clínica de los individuos participantes los niveles de parámetros metabólicos como glicemia, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos.
3. Correlacionar los niveles circulantes de adiponectina con los demás parámetros en estudio, para comprobar la posible influencia que puedan ejercer, sobre la homeostasis glicérica y lipídica, y así su repercusión en la enfermedad vascular periférica.
4. Evaluar la influencia de las terapias recibidas por los participantes, sobre los parámetros de estudio, en el desarrollo y evolución de la resistencia a la insulina asociada con la enfermedad vascular periférica
5. Establecer la influencia del género, reproduciendo el citado diseño en humanos hombres y mujeres.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Reactivos

Albúmina Sérica Bovina, Adenosin 5'trifosfato (ATP), Nicotinadenina dinucleótido (NAD), Glicerol-fosfato deshidrogenasa (GPDH), Glicerol-kinasa (GK), Adenosin deaminasa (ADA) de laboratorios **ROCHE**. EDTA disódico, Bicarbonato de Sodio, Glicerol, 2-propanol, n-heptano, Ácido Sulfúrico, Hidróxido de Hidrazonio, Fosfato Monobásico de Potasio de laboratorios **MERCK**. D(+)-Glucosa, Cloruro de Sodio, Cloruro de Potasio, Cloruro de Magnesio hexahidrato, Cloruro de Calcio anhidro de **PANREAC**. Hepses de **FLUKA**. Kit para la determinación de Glucosa de **BIOSYSTEM**, Kit para la determinación de ácidos grasos libres no esterificados (NEFA C) de **WAKOL**, Kit para la determinación de adiponectina de ratón (Quantikine®) de **R&D SYSTEMS**. Kit para la determinación de insulina (Insulin CT®) de **SCHERING** - España.

### 2. Fármacos de Prueba

#### Primera Fase

Sobres de Inyesprin® oral - acetilsalicilato de lisina por 1,8 g equivalentes a 1 g de ácido acetilsalicílico de **ANDROMACO**, ampolletas de Seguril® de 20 mg de furosemida/2 mL de **HOECHST**, comprimidos Beloken® por 100 mg de metoprolol de **ASTRA-ZENECA**, comprimidos de amlodipino por 10 mg de **RATIOPHARM**, comprimidos Renitec® por 5 mg de enalapril de **MSD**, comprimidos por 40 mg de 5-mononitrato de isosorbide de **NORMON S.A.**

#### Segunda Fase

Comprimidos de Zocor® por 20 mg de simvastatina de **MSD**, telmisartán, meformina, rosiglitazona y glibenclamida de **SIGMA-ALDRICH**.

### 3. Equipos e instrumentos

Micropipetas **EPPENDORF** (0,5 a 10, 10 a 100 y 100 a 1000 µL, multicanal de 5 a 1200 µL de 8 canales), balanza electrónica de precisión **METTLER – TOLEDO AB-240**, centrífuga **BECKMAN Modelo J2-21**, espectrofotómetro **BECKMAN DU-40 UV/VIS**, baño termostatzado con agitación horizontal **UNITRONIC OR**, agitador vortex **HEIDOLPH REAX**, lupas binoculares **LEICA** y **WILD**, equipo de elisa Ultra Evolution - **TECAN** .

### 4. Materiales

Tubos Reacción Eppendorff 1.5-2.0 mL, celdas espectrofotométricas semimicro **PLASTIBRA®** de Brand por 2.5 mL (12.5\*12.5\*45 mm). Rango λ: 220-900nm, cajas de petri (Ø \* H: 100\*15 mm), viales de vidrio de 10 y 20 mL, tubos de vidrio de 10 mL, equipo de disección de acero inoxidable, desecador de vidrio como cámara de anestesia, espátulas y material general de laboratorio de vidrio y plástico (balones aforados, matraces, vasos de precipitado, probetas y pipetas).



## 5. Protocolo de prueba y evaluación de fármacos en ratones CD1, de acuerdo con los estándares internacionales OECD.<sup>254,255</sup>

- Animales de prueba

Los animales seleccionados son adultos jóvenes, sanos, de 8 a 12 semanas de edad y de 25 g de peso, con una variación máxima de peso equivalente al 20 % entre individuos de cada prueba.

Se usan cinco (5) animales correctamente identificados, separados por sexo y fármaco de prueba.

La evaluación es realizada usando un grupo de animales control (3 animales) para cada fármaco de prueba, cuya única diferencia es la no administración de la sustancia en prueba y cuyo objetivo es, que sirvan de referencia de los valores normales y el de evaluar aspectos ajenos, que pudieran ser atribuibles a la sustancia de ensayo.

La selección de los animales que participarán en las pruebas y su ubicación en los diferentes grupos de dosis y control, esta hecha en forma aleatoria, debiendo cumplir con un periodo de ambientación al sitio de la experiencia, por un mínimo de 5 días antes de la realización de la prueba.

Las hembras seleccionadas para la prueba deben ser nulíparas y no gestantes.

- Alojamiento

Los animales deben ser agrupados en cajas por sexo y por fármaco de prueba.

La humedad relativa en el lugar de alojamiento debe permanecer entre 30 y 70 %, con una temperatura ambiente de  $22 \pm 3$  °C y periodos de luz-oscuridad de 12 horas.

La alimentación suministrada es la tradicional (Harlan para ratón de Harlan Teklant), cumpliendo con los requerimientos mínimos necesarios para el buen desarrollo de los animales, suministrada *ad libitum* al igual que el agua, de acuerdo con el consumo promedio de la especie.

- Niveles de Dosificación y Régimen de Administración

Se usan dosis de prueba de cada fármaco de acuerdo con el peso de los animales y con lo descrito en la tabla 1, previendo que no se manifiesten efectos adversos que invaliden la prueba.

En la primera fase de evaluación, tanto el AAS como la furosemida fueron preparadas en solución acuosa para su administración intraperitoneal (i.p.) con jeringa hipodérmica en las dosis señaladas, usando como control la administración i.p. de solución salina normal (NaCl 0.9%). Los demás fármacos fueron triturados finamente en mortero, para ser administrados por vía oral como suspensión oleosa, a través de cánula gástrica en las dosis señaladas. En este caso se usa como control la administración oral de aceite de oliva, mismo vehículo de preparación de las suspensiones de los fármacos.

Para la segunda fase, tan solo la simvastatina fue preparada por trituración del producto comercial Zocor y suspendido en aceite de oliva, para su administración por vía oral, mientras los demás fármacos fueron preparados a partir del principio activo en solución de acuerdo con el vehículo citado en la tabla 1, para ser administrados por vía i.p., usando como control los animales tratados únicamente con el vehículo respectivo.

---

<sup>254</sup> Organization for Economic Cooperation and Development OECD. Guideline For Testing Of Chemicals. Revised Draft Guideline 420 : Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure- October 2000.

<sup>255</sup> Organization for Economic Cooperation and Development. OECD - Draft Guidance Document On Acute Oral Toxicity Testing No 24 Paris February 2001.

**Tabla 1.** DOSIS DE PRUEBA EN RATÓN CD1 DE FÁRMACOS PARA TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA ASOCIADA A ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA

Fármaco	Dosis mg/kg*día	Vehículo	Vía Adm.	t de Adm.	Ref. Bibliográfica
Fármacos	Primera	Fase			
Metoprolol	30	Aceite	oral	7 días	<i>Eur. J. Pharmacol.</i> 491 (2004) 173- 179. Tschöpe C. y col.
Furosemida	10	SSN	i.p.	7 días	<i>Physiology &amp; Behavior</i> 80 (2004) 629- 35. Rowland N.E. y col.
Enalapril	1	Aceite	oral	14 días	<i>J. Cardiovasc. Pharmacol.</i> 1995 Jul;26(1):61-5. Araki M y col.
Amlodipino	3	Aceite	oral	7 días	<i>Biochem. Biophys. Resear. Communications.</i> 327 (2005) 1083-7. Liao Y. y col.
AAS	10	SSN	i.p.	7 días	<i>Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.</i> 68 (2003) 305-310. Molina V. y col.
5-mononitrato de isosorbide	100	Aceite	oral	7 días	<i>J. Pharmacol. Exp. Ther.</i> 298 (2001), No. 1, 346-53. Hatanaka T. y col.
Fármacos	Segunda	Fase			
Telmisartan	1	SSN:DMSO 99:1	i.p.	7 días	<i>J. Hypertens.</i> 13 (1995), No.8, 891-9. Böhm M. y col.
Simvastatina	70	Aceite	oral	7 días	<i>J. Lipid Res.</i> (2005), Vol. 46, 2735-2744. Myerson M. y col.
Rosiglitazona	5	H <sub>2</sub> O:EtOH 90:10	i.p.	7 días	<i>Basic Res. Cardiol.</i> 102 (2007), 80-9. Gonon A.T. y col.
Metformina	200	SSN	i.p.	7 días	<i>Pharmacol. Res.</i> 45 (2002), No. 3, 183-7. Yasar A. y col.
Glibenclamida	2.5	NaOH 0.001N, pH 7,4	i.p.	7 días	<i>Life Sciences.</i> 77 (2005) 980-990. Jong-Yuh C. y col.

- Examen Clínico

La evaluación fisiológica y metabólica, es realizada tomando muestras sanguíneas, para la realización del análisis bioquímico correspondiente, determinando los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres no esterificados (NEFAs), glucosa (glicemia), adiponectina y secreción de insulina siguiendo los procedimientos descritos a continuación.

Se realiza igualmente, la toma de tejido adiposo visceral y subcutáneo, para la realización de pruebas de lipólisis basal y evocada inmediatamente después de extraídos, siguiendo los procedimientos descritos a continuación:

### Obtención de muestra sanguínea animal

Después de cumplido el periodo de exposición a cada fármaco, los animales control y de prueba son anestesiados, para realizar la toma de sangre respectiva por punción cardiaca directa en el ventrículo izquierdo, a fin de obtener un volumen adecuado de muestra (entre 0.4 y 0.6 mL de sangre) con jeringa hipodérmica, anticoagulada con EDTA disódico 1%. Seguidamente se procede a centrifugar las muestras de sangre durante 15 minutos a 2000 rpm y 4 °C, después de lo cual se separa el plasma y se fracciona en alícuotas (10, 20 y 50 µL), que son mantenidas a -40 °C hasta el momento de realizar las pruebas respectivas.

### Obtención de adipocitos aislados

Se sacrifica al animal, no ayunado, a primera hora de la mañana y se extrae el tejido adiposo blanco, que es obtenido de los panículos subcutáneo e intraabdominal (perirrenal, omental y epididimario). La grasa obtenida se trocea en pequeños fragmentos y se deposita en frascos con solución del buffer Krebs Ringer Bicarbonato-albúmina (KRBA). Los adipocitos son aislados por digestión enzimática de la trama proteica, tras añadir colagenasa y realizar la digestión enzimática mediante agitación durante 30 - 45 min, en baño a 37 °C. Para separar las células adiposas del estroma conectivo, se filtra a través de una malla de nylon (que se desecha). Los adipocitos filtrados quedarán en la superficie y,

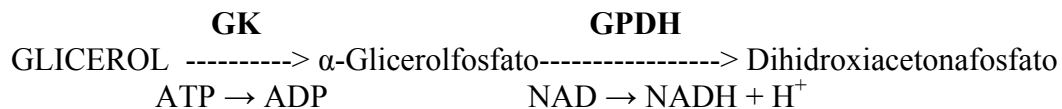
para eliminar la colagenasa, las células se lavan con 15 mL del KRBA a 37 °C, repitiendo este paso 3 veces. Tras cada lavado se agita suavemente, y se deja el tubo durante unos 3-5 min en el baño hasta que se estabilizan ambas fases; luego, se desecha la fase inferior por aspiración. Finalmente, una pequeña muestra de los adipocitos obtenidos se coloca sobre un porta, y se observa al microscopio su integridad y tamaño.

### Determinación de actividad lipolítica

La lipólisis se analiza tomando como criterio la cantidad de glicerol liberado en el medio por los adipocitos, en el curso de la incubación con el fármaco a estudiar, en una proporción fármaco-suspensión de adipocitos de 1:100. La incubación se realiza por espacio de 90 minutos, período durante el cual la lipólisis es una función lineal del tiempo. El glicerol, producido a partir de la hidrólisis de triglicéridos (TAG), es poco metabolizado por las células adiposas, ya que éstas poseen una actividad gliceroquinasa muy reducida. Así, la liberación de glicerol al medio extracelular refleja fielmente la intensidad de la lipólisis.

Hay que tener en cuenta que los ácidos grasos libres (AGL) que se producen en este proceso pueden ser reesterificados por los adipocitos en los procesos de síntesis de TAG, ya que poseen actividad espontánea de lipogénesis que jamás es nula. Así, la cantidad de AGL en el medio de incubación en un momento dado es la resultante de dos procesos metabólicos opuestos, lipólisis y lipogénesis, por lo que la determinación de los AGL constituye un índice de lipólisis poco fiable.

Para medir el glicerol se parte de la siguiente reacción enzimática:



GK = Glicerokinasa

GPDH = Glicerol-fosfato deshidrogenasa

La reacción se produce, durante 40 min, en presencia de hidrazina, que fija la función cetona y favorece la irreversibilidad de la reacción. La cantidad de NADH + H<sup>+</sup> producida es proporcional a la cantidad de glicerol presente en la muestra a medir.

En cada experimento se determinará el glicerol en las muestras y tubos testigos (KRBA sólo, sin células), partiendo de una curva estándar de glicerol. Par obtener la absorbancia óptica, se ajustará el espectrofotómetro con luz UV (Beckman DU-40) a una longitud de onda de 340 nm.

La cantidad de glicerol en el ensayo, se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$Q = \frac{(\text{DO ensayo} - \text{DO testigo})}{\text{DO std}} \times Q \text{ std}$$

Q = cantidad de glicerol en la muestra

DO ensayo = densidad óptica (absorbancia) obtenida para esa muestra

DO testigo = absorbancia del tubo testigo (sólo KRBA)

DO std = absorbancia del estándar (se suele escoger el de 0,1 μmoles glicerol/200 μL)

Q std = cantidad de glicerol (en μmoles) del estándar elegido

Los resultados se expresan en  $\mu$ moles de glicerol liberados en el medio/100 mg de lípidos celulares/ 90 min, determinando los lípidos totales de los adipocitos.

### **Estudio de la concentración plasmática de ácidos grasos libres**

Para la cuantificación objetiva emplearemos doble reacción enzimática. En la primera reacción interviene la acil-CoA-sintetasa (ACS) y en la segunda participa la acil-CoA-oxidasa (ACOD). El cambio colorimétrico también será revelado por espectrofotometría y, a partir de las densidades ópticas obtenidas, calcularemos los ácidos grasos no esterificados.

El ensayo se fundamenta en la acilación de la coenzima A (CoA) por los ácidos grasos libres no esterificados (NEFA), en presencia del enzima acil-CoA-sintetasa (ACS), adenosin-trifosfato (ATP), y cationes de magnesio. Se producen los tiol-ésteres de CoA, conocidos como acil-CoA, así como productos intermedios de adenosín-monofosfato (AMP) y pirofosfato (PPi).

En la segunda parte del procedimiento el acil-CoA generado en la reacción anterior, es oxidado al añadir el enzima acil-CoA-oxidasa (ACOD). Se produce peróxido de hidrógeno el cual, en presencia de peroxidasa (POD), facilita la condensación oxidativa de 3-metil-N-etil-N-( $\beta$ -hidroxi-etil)-anilina (MEHA) con 4-aminoantipirina para forma un aducto de color púrpura, con una absorción máxima a 550 nm de longitud de onda. En consecuencia, la cantidad de NEFA en la muestra puede ser extrapolada a partir de reacción colorimétrica, determinándose ayudado por el espectrofotómetro a 550 nm.

Para cuantificar los ácidos grasos libres no esterificados en el plasma utilizaremos el kit NEFA-C, suministrado por Wako Chemicals (Richmond, VA, EEUU). Siguiendo el protocolo indicado en el propio kit, se realiza el análisis a través de la reacción descrita, expresando los resultados en mmol/L. A continuación detallaremos el protocolo del análisis:

- Preparar las soluciones de reactivos A y B:

- Solución A de reactivo color: disolver el contenido de una botella de reactivo de color A (R1) con 10 mL del solvente A (R1a) y mezclar bien.
- Solución B de reactivo color: disolver el contenido de una botella de reactivo de color B (R2) con 20 mL del solvente B (R2a) y mezclar bien.

- Etiquetar tubos de ensayo para identificar al blanco, estándar y cada una de las muestras a estudiar. Seguidamente prepararemos los tubos, añadiendo:

- Blanco: 50  $\mu$ L de agua destilada.
- Estándar: añadir 50  $\mu$ L de la alícuota del estándar que viene con el kit.
- Muestra: pipetear 50  $\mu$ L de la correspondiente muestra de plasma, obtenida previamente y ya descongelada.

- Posteriormente, añadiremos a todos los tubos 1 mL de la solución A de reactivo color y mezclaremos cuidadosamente. Para esta primera reacción enzimática se mantendrán los tubos en baño a temperatura de 37 °C durante 10 min.

- Al concluir la primera fase, añadiremos a todos los tubos 2 mL de la solución B de reactivo color. Tras mezclar cuidadosamente, nuevamente someteremos los tubos a incubación en baño a 37 °C durante exactamente 10 min, para facilitar la segunda reacción enzimática.

- Tras extraer los tubos del baño, facilitaremos el equilibrio con la temperatura ambiente esperando 5 min. Finalmente, evaluaremos la densidad óptica frente al blanco, mediante lectura con el espectrofotómetro a la longitud de onda de 550 nm.

- Para calcular la concentración de ácidos grasos libres no esterificados en cada muestra de plasma, simplemente aplicaremos la siguiente fórmula:

$$C_m = C_e \times \frac{A_m}{A_e}$$

$C_m$  = Concentración en la muestra

$C_e$  = Concentración del estándar = 1 mmol/L

$A_m$  = Absorbancia de la muestra

$A_e$  = Absorbancia del estándar

- Habitualmente, los resultados se expresarán en mmol/L.

## Metodología para la obtención de islotes pancreáticos

Primeramente los ratones se sacrifican mediante dislocación cervical, o en su caso siguiendo las normas éticas indicadas por las convenciones internacionales, para después proceder a la extracción del páncreas.<sup>256</sup> Este páncreas está previamente distendido con una solución fisiológica de buffer bicarbonato para posteriormente extraerse. Una vez obtenido, se procede al primer paso del aislamiento de los islotes mediante digestión durante 12 minutos con colagenasa (Inmunogenetic, Barcelona). El siguiente paso consiste en la disección de los islotes de Langerhans ayudándose con una lupa binocular, hasta conseguir que la preparación quede libre de contaminación de medio exocrino. El medio usado para todo este proceso es un buffer bicarbonato-Hepes cuya solución contiene 120 mM NaCl, 4.8 mM KCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM HEPES y 24 mM NaHCO<sub>3</sub>. Este medio se gasea con O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> (94:6) y se mantiene a pH de 7.4 para suplementarse con albumina bovina BSA 1 mg ml<sup>-1</sup> BSA y 10 mM glucosa. La concentración de glucosa se va ajustando de acuerdo al protocolo necesario en cada experimento.

### A.- Incubación estática

En los experimentos de secreción de insulina, medida como incubación estática sobre islotes pancreáticos de ratón, los islotes serán preincubados durante 60 min en un medio conteniendo 15 mM de glucosa, con el fin de estimular la maquinaria secretora y procediendo después a su distribución en grupos de 3 islotes. Cada grupo de 3 islotes se incubarán durante 1 hora en 1 ml de solución de incubación, que contendrá las concentraciones adecuadas de glucosa o la sustancia a ensayar. Posteriormente se recogerá una alícuota y se realizarán las diluciones adecuadas para proceder finalmente a la medición de insulina por radioinmunoensayo (RIA) empleando un kit comercializado (Schering, España).

## Determinación de insulina. Principios del procedimiento por radioinmunoensayo

El principio de dosificación de la insulina se centra en la competencia de las moléculas de la hormona marcadas radiactivamente con I<sup>125</sup>, con moléculas no marcadas que disputan los mismos lugares de unión con un anticuerpo anti-insulina; de esta forma se origina una disminución de la cantidad de material marcado unido en la disolución final.

Estudiando una serie de patrones de cantidades conocidos de insulina no marcada, los estándares, puede medirse la cantidad desconocida de nuestra muestra. A medida que aumentan las cantidades de hormona no marcada en el ensayo, los limitados lugares de unión

<sup>256</sup>García-Barrdo M.J. y col. *Endocrinology*. 2001; v.142, p.299-307.

del anticuerpo se van saturando progresivamente, en consecuencia se une menos hormona marcada. La incubación de los componentes del sistema (hormona marcada, no marcada y anticuerpo) permite que ocurra una reacción de equilibrio entre ligandos (Hormona con  $I^{125}$  y no marcada) y el receptor (anticuerpo anti-insulina). La separación subsiguiente de las formas unida de las no unidas o libres y la medida de la cantidad de radiación de la fase unida nos permite la cuantificación de la reacción que ha tenido lugar.

Reactivos necesarios

- 1.- Buffer de ensayo 0.05 M buffer fosfato pH 7.4 que contiene 0.025M EDTA, 0.08% azida sódica y 1% albúmina para RIA
- 2.- Anticuerpo anti-insulina de rata disuelto en el buffer de ensayo
- 3.- Insulina marcada con  $I^{125}$  purificada por HLPC (con actividad específica de  $367\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ ) contiene  $<5\mu\text{Ci}$  ( $<185\text{kBq}$ ) calibrada cada mes.
- 4.- Buffer que contiene Ig G de cobaya. Su contenido se usa entero para hidratar el  $I^{125}$  que se suministra liofilizado.
5. Estándar de rata purificado en el buffer. 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 10.0 ng/ml
- 6.- Controles de insulina de rata purificada
- 7.- Reactivo precipitante: anti-IgG de cobayo en cabra. 3% PEG 0.05% Triton X-100 en 0.005M fosfato salino 0.025M EDTA, 0.8% azida sódica.

### **Cálculos:**

Es necesario contar las desintegraciones por minuto (dpm) ó cuentas por minuto (cpm) en un contador Gamma. En nuestro caso el contador gamma posee un programa informático que realiza automáticamente la curva patrón y analiza cada una de las muestras realizando el cálculo para cada una de ellas por extrapolación de la curva patrón. Así determina las concentraciones en ng/ml de insulina de ratón o rata. El límite de sensibilidad para la insulina de rata es de 0.1 ng/ml. Para valores superiores a 10ng/ml se pierde la linealidad de la curva patrón por eso en estos casos es necesaria la dilución de las muestras en un buffer. La especificidad de los reactivos frente a la insulina de ratón es del 100%.

### **Estudio adiponectina en plasmá de ratón**

Emplearemos métodos de enzimoimmunoanálisis (EIA), que se basa en la detección de los complejos antígeno-anticuerpo mediante el empleo de enzimas unidas al antígeno o al anticuerpo. La enzima utilizada más frecuentemente es la peroxidasa del rábano (Horseradish peroxidase, HRP), aunque pueden emplearse otras. La presencia de la enzima en el inmunocomplejo es detectada por una reacción de cambio del color, que se produce al añadir el sustrato cromogénico. La lectura de la reacción puede realizarse a simple vista o, con mayor precisión, por espectrofotometría. Los métodos de EIA son similares, en cierta medida, a los de radioinmunoensayo (RIA), aunque aquellos tienen mayor sensibilidad y suponen las ventajas de ser menos costosos y no ofrecer riesgos para el personal que manipula las muestras. En nuestro trabajo aplicaremos, específicamente, la técnica de ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) que, mediante una reacción "en sándwich", emplea dos anticuerpos monoclonales

(AcMo) frente a sendos epítomos antigénicos diferentes; la reacción será revelada por colorimetría, al añadir peroxidasa/OPD, y cuantificada con un espectrofotómetro automatizado a la longitud de onda apropiada.

Para nuestro estudio dispondremos de equipos de ELISA ya comercializados, siguiendo el protocolo descrito en el kit. Concretamente, emplearemos el kit Mouse Adiponectin Quantikine MRP300/Acrp30, comercializado por R&D Systems (Minneapolis, MN, EEUU), presentando los resultados en  $\mu\text{g/mL}$ . El protocolo a seguir consiste en:

- 1) Preparar el “diluyente calibrador”, mezclando 20 mL del “Calibrator Diluent RD5-26 Concentrate” con 60 mL de agua bidestilada. Obtendremos 80 mL del “diluyente calibrador”.
- 2) Reconstituir el estándar de adiponectina recombinante de ratón:
  - Añadir al vial 5 mL del "diluyente calibrador" recién preparado
  - En este momento disponemos de una solución stock de 10 ng/mL de adiponectina
  - Para que la dilución sea estable, mezclar y dejar reposar durante, al menos, 5 min
- 3) Preparar la curva estándar (concentraciones: 5,0 – 2,5 – 1,25 – 0,62 – 0,31 – 0,16 ng/mL)
  - Pipetear 200  $\mu\text{L}$  del “diluyente calibrador” en 7 tubos de ensayo etiquetados con las diluciones anteriores.
  - Partiendo de la solución stock (10 ng/mL), generar la serie 2x decreciente de diluciones del estándar, agitando ligeramente antes de añadir, progresivamente, 200  $\mu\text{L}$  del tubo precedente.
- 4) Descongelar las muestras de plasma, obtenidas antes del animal y, después, diluirlas en una proporción 1:2000 con el “diluyente calibrador”. Podemos lograrlo en 2 pasos, haciendo en el primero una dilución 1:100, y a partir de ésta última, la segunda dilución (1:20):
  - DILUCIÓN 1:100 → Añadir 10  $\mu\text{L}$  de muestra + 990  $\mu\text{L}$  del “diluyente calibrador”
  - DILUCIÓN 1:20 → Añadir 10  $\mu\text{L}$  de la dilución de muestra anterior + 190  $\mu\text{L}$  del “diluyente calibrador”
- 5) En cada uno de los pocillos de la placa, recubierta con AcMo anti-adiponectina de ratón, pipetear 50  $\mu\text{L}$  del “diluyente de ensayo” (RD1W).
- 6) En los pocillos 1A y 1B, etiquetados como “blanco”, se añadirán 50  $\mu\text{L}$  del “diluyente calibrador”, que representará el valor cero en la curva estándar (0 ng/mL).
- 7) Para el resto de la placa, añadir 50  $\mu\text{L}$  del estándar al pocillo respectivo (siguiendo el esquema creciente de distribución), o bien, 50  $\mu\text{L}$  de la correspondiente muestra (ya diluida) según el diseño previamente establecido.
- 8) Preparar el Kit Control de Adiponectina de ratón. Para ello, añadir 1 mL de agua bidestilada al vial del liofilizado. Utilizar sin diluir, añadiendo 50  $\mu\text{L}$  en los pocillos 3A y 3B.
- 9) Aplicar, ligeramente y durante 1 min, pequeños golpecitos en el fondo de la placa, cubrirla e incubar, a temperatura ambiente, durante 3 horas.
- 10) Preparar el “tampón de lavado”: diluir los 25 mL del “Wash Buffer Concentrate” con agua bidestilada, hasta completar 625 mL de solución de lavado.
- 11) Tras las 3 h de incubación se realizarán 5 etapas de aspiración y lavado. Cada vez:
  - Invertir la placa para decantar

- Lavar con pipeta multicanal, añadiendo a cada pocillo, 400  $\mu$ L del “tampón de lavado”
  - En la última fase (5ª) decantar cuidadosamente, secando la placa con papel absorbente.
- 12) Preparar la Solución del Conjugado de adiponectina de ratón, mezclando 0,5 mL del “concentrado de conjugado de adiponectina de ratón” (= Ac policlonal murino anti-adiponectina conjugado con HRP) + 11 mL del “Diluyente de Conjugado tipo 2” (incluido en el kit). Proteger de la luz.
  - 13) Añadir 100  $\mu$ L de la Solución del Conjugado de adiponectina, recién preparada (ver punto 12), a los pocillos.
  - 14) Cubrir la placa y realizar una segunda incubación, tan sólo de 1 hora, a temperatura ambiente.
  - 15) Finalizada la 2ª incubación, nuevamente someter los pocillos a 5 etapas de aspirado y lavado con el “tampón de lavado”. Quizás sea necesario volver a prepararlo, utilizando el segundo vial del tampón de lavado del kit.
  - 16) Preparar la “Solución de Sustrato cromogénico” solo 15 min antes de emplearlo. Mezclar, en volúmenes iguales, el reactivo A (peróxido de hidrógeno) con el reactivo B (tetrametilbencidina). Se debe resguardar de la luz.
  - 17) Posteriormente pipetear en cada pocillo 100  $\mu$ L de la "Solución de sustrato cromogénico", recién preparada, y permitir una tercera incubación de tan sólo 30 min a temperatura ambiente, y también al resguardo de la luz.
  - 18) Para detener la 3ª reacción: añadir a cada pocillo 100  $\mu$ L del ácido clorhídrico incluido en el kit ("stop solution").
  - 19) Antes de que transcurran 30 min, medir la absorbancia óptica con lectura a la longitud de onda de 450 nm, corrigiendo con el filtro de 570 nm (para garantizar lecturas precisas). Como lector de placas utilizaremos el espectrofotómetro "Ultra Evolution - Tecan". Por extrapolación sobre la curva estándar, obtenida mediante la recta de regresión, se calculará la concentración plasmática de adiponectina para cada una de las muestras. Los resultados se expresarán en  $\mu$ g/mL.

## **6. Evaluación de fármacos en el tratamiento de la resistencia a la insulina asociada a enfermedad vascular periférica, en pacientes afectados por estas patologías:**

### **Protocolo de muestreo**

La población objeto del estudio esta compuesta por individuos que cumplen los siguientes criterios:

### **Criterios de Inclusión**

- Individuos sanos (hombres y mujeres), los cuales participan como grupos de referencia
- Individuos diagnosticados con patología vascular periférica, pero sin diagnóstico de diabetes.



- Individuos con diagnóstico de diabetes, pero sin diagnóstico de patología vascular periférica.
- Individuos diagnosticados con patología vascular periférica y de diabetes concomitante.

#### **Criterios de Exclusión**

- Individuos con enfermedades degenerativas y/o patologías neoplásicas.
- Individuos con procesos sépticos locales y/o generales.

#### **Análisis retrospectivo de historias clínicas y antecedentes**

Para todos los individuos tanto control como afectados por enfermedad vascular periférica oclusiva y/o diabetes, se realizará una completa revisión de la historia clínica y recopilación de los antecedentes patológicos y clínicos, teniendo en cuenta los criterios antes descritos y rescatando toda la información, que pudiere tener ingerencia sobre la evolución del cuadro patológico de interés, resaltando número de historia clínica, edad, género (sexo), diagnóstico clínico, parámetros clínicos (glucemia, colesterol total (CT), colesterol HDL (C-HDL), colesterol LDL (C-LDL), triglicéridos (TG) y de ser posible hemoglobina glicosilada (Hb1Ac).

#### **Obtención de muestras sanguíneas (de todos los participantes)**

Se obtuvieron por punción venosa en el antebrazo durante la consulta médica o a través de la venoclisis, durante el posible procedimiento quirúrgico en salas de cirugía, requiriéndose de 10 mL de muestra sanguínea del paciente, la cual se depositó en tubo seco (sin adición de anticoagulante), para inmediatamente centrifugarse y obtener del suero sanguíneo, que sirve como muestra para la realización de los respectivos análisis.

#### **Estudio adiponectina sérica humana**

En el caso de las muestras de procedencia humana, el análisis se realiza en el suero obtenido de los pacientes, y para la determinación de los niveles de adiponectina hemos utilizado el kit Human Adiponectin Quantikine SRP300, comercializado por R&D Systems (Minneapolis, MN, EEUU).

Partiendo de una curva estándar cuyo intervalo de concentraciones es 3,9 – 7,8 – 15,6 – 31,2 – 62,5 – 125 y 250 ng/mL, el protocolo es similar al descrito previamente para analizar la adiponectinemia en el ratón. Para expresar los niveles de adiponectina sérica en humanos, los resultados se expresan en µg/mL.

## RESULTADOS

De acuerdo con los procedimientos seguidos y los análisis realizados, a continuación se citan los resultados después de aplicado el modelo estadístico para el tratamiento de los datos obtenidos de las poblaciones evaluadas.

### Modelo Estadístico

Sabiendo que la investigación biológica, médica y paramédica, hace necesario comparar dos o más grupos de tratamientos, es adecuado realizar pruebas estadísticas como el análisis de varianza “ANOVA”, para detectar posibles diferencias entre ellos. El objetivo principal es asegurar si existen diferencias (en forma global) entre las medias de los niveles de las variables (factores). Cuando sólo se trata de comparación entre dos medias, la prueba usada en la evaluación de los resultados es la t-Student para el contraste de las medias, que resulta equivalente con el ANOVA para este fin.

En la prueba ANOVA de un factor se plantean las siguientes hipótesis:

$H_0$ : las medias de los  $K$  grupos son todas iguales.

$H_1$ : al menos una de las medias es diferente.

**$H_0$  se acepta cuando se obtienen valores de probabilidad (P) < 0.05 ó se rechaza si los valores de P son > 0.05, lo cual demuestra que hay diferencia entre las medias de los tratamientos.**

Para el caso de comparación de las medias entre los diferentes tratamientos, si una vez realizado el ANOVA se observan diferencias entre las medias de cada tratamiento, es necesario comparar cuales grupos concretos difieren entre sí, lo cual solo es posible mediante el uso de procesos de comparaciones múltiples. Las pruebas de Bonferroni y Dunnett son comparaciones múltiples *a posteriori*, que contrastan todos los tratamientos por parejas ó cada tratamiento con el control, respectivamente. En las pruebas *a posteriori* las hipótesis planteadas son:

$$H_0: \mu_{\text{control}} = \mu_{\text{tratamiento.}}$$

$$H_1: \mu_{\text{control}} \neq \mu_{\text{tratamiento.}}$$

**El criterio de aceptación de la  $H_0$  es el mismo que para la prueba de ANOVA.**

De esta forma a todos los resultados obtenidos se realiza el siguiente análisis estadístico:

1. Promedio, desviación estándar y error estándar medio.
2. ANOVA de un factor, con  $\alpha= 0.05$ .
3. Prueba de Bonferroni y Dunnett, con  $\alpha= 0.05$ .

Los puntos 2 y 3 se realizan con ayuda del software estadístico GraphPad InStat.

Resultados de los análisis de adiponectina y ácidos grasos libres, en las muestras de plasma obtenidas de los animales tratados con cada uno de los fármacos de la primera fase del estudio:

Tabla 2a: Estadística de los niveles plasmáticos de adiponectina y NEFA.

P B ↓	P E ↓	F A R M A C O							
		ASPIRINA				FUROSEMIDA			
		♂		♀		♂		♀	
		C	P	C	P	C	P	C	P
A	n	5	5	9	5	5	5	9	10
D	M	4.28	3.8	7.62	7.66	4.28	2.44	7.62	7.93
I	SD	1.57	0.77	1.20	1.17	1.57	0.72	1.20	1.38
P	SE	0.70	0.35	0.40	0.52	0.70	0.32	0.40	0.44
N	n	5	5	2	5	5	5	5	9
E	M	0.39	0.50	2.05	2.3	0.39	0.48	0.58	0.53
F	SD	0.08	0.16	0.07	0.26	0.08	0.07	0.23	0.15
A	SE	0.04	0.70	0.05	0.11	0.04	0.03	0.10	0.05

PB: Parámetro biológico      n: número de datos      SD: desviación estandar  
 PE: Parámetro estadístico      M: media      SE: error estandar medio  
 ADIP: adiponectina (µg/mL)      ♂: machos  
 NEFA: ácidos grasos libres no esterificados (mmol/L)      ♀: hembras  
 C: animales control      P: animales tratados

Resultados de los análisis de adiponectina y ácidos grasos libres, continuación fármacos de la primera fase del estudio:

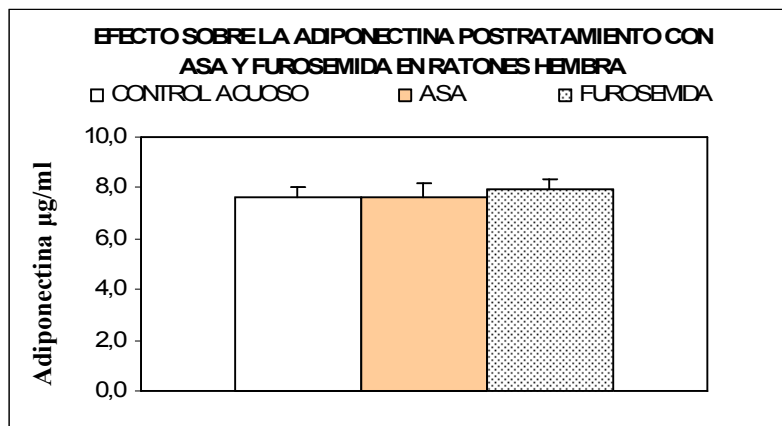
Tabla 2b: Estadística de los niveles plasmáticos de adiponectina y NEFA.

		F A R M A C O															
P B ↓	P E ↓	METOPROLOL				AMLODIPINO				ENALAPRIL				5MNIS			
		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀	
		C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P
A	n	9	5	12	9	9	5	12	5	9	4	12	4	9	5	12	11
D	M	4.74	5.58	7.82	6.01	4.74	3.26	7.82	6.52	4.74	4.35	7.82	9.08	4.74	2.22	7.82	6.79
I	SD	1.13	1.27	1.30	1.31	1.13	0.65	1.30	1.82	1.13	1.62	1.30	0.74	1.13	0.36	1.30	1.17
P	SE	0.38	0.57	0.37	0.44	0.38	0.29	0.37	0.81	0.38	0.81	0.37	0.37	0.38	0.16	0.37	0.35
N	n	7	5	12	8	7	5	3	4	7	5	3		7	5	6	11
E	M	0.63	0.82	1,20	0.74	0.63	0.73	2.5	0.55	0.63	0.58	0.83	0.20	0.63	0.56	0.73	0.69
F	SD	0.08	0.14	0,23	0.18	0.08	0.69	0.30	0.13	0.08	0.07	0.21	0.08	0.08	0.09	0.22	0.16
A	SE	0.03	0.06	0.17	0.07	0.03	0.31	0.17	0.06	0.03	0.31	0.12	0.04	0.03	0.04	0.08	0.05

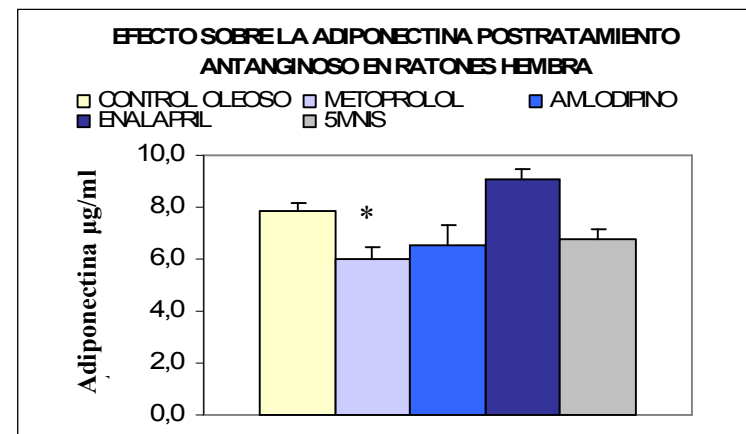
PB: Parámetro biológico      n: número de datos      SD: desviación estandar  
 PE: Parámetro estadístico      M: media      SE: error estandar medio  
 ADIP: adiponectina (µg/mL)      ♂: machos  
 NEFA: ácidos grasos libres no estrificados (mmol/L)      ♀: hembras  
 C: animales control      P: animales tratados

Graficas No. 1a: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la primera frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

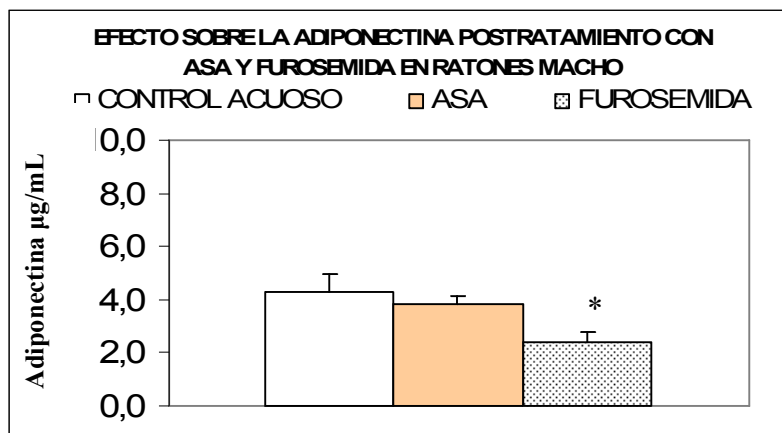
A



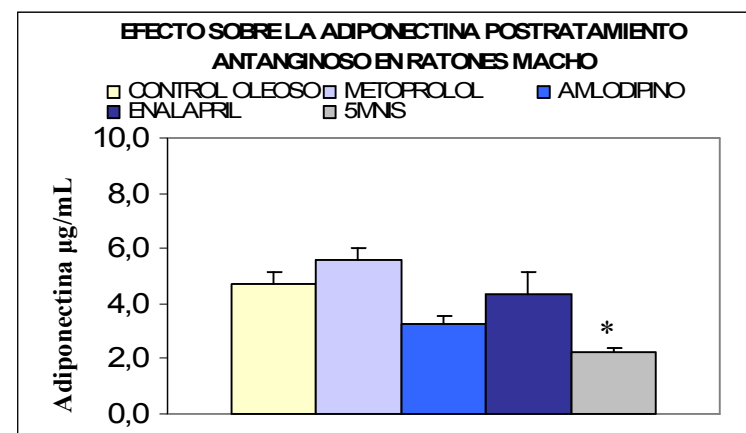
B



C



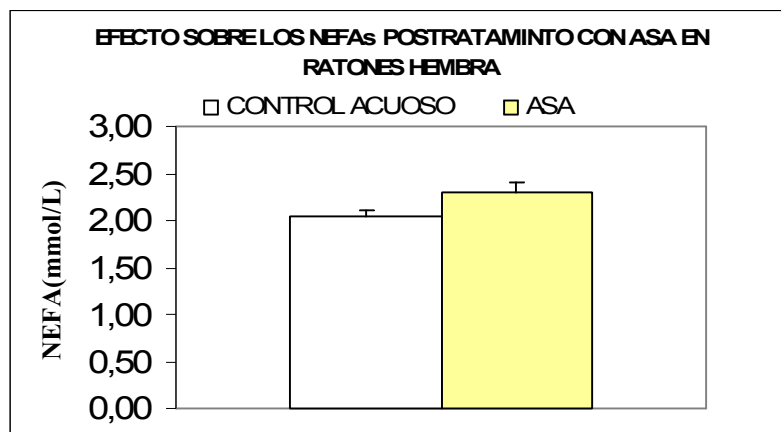
D



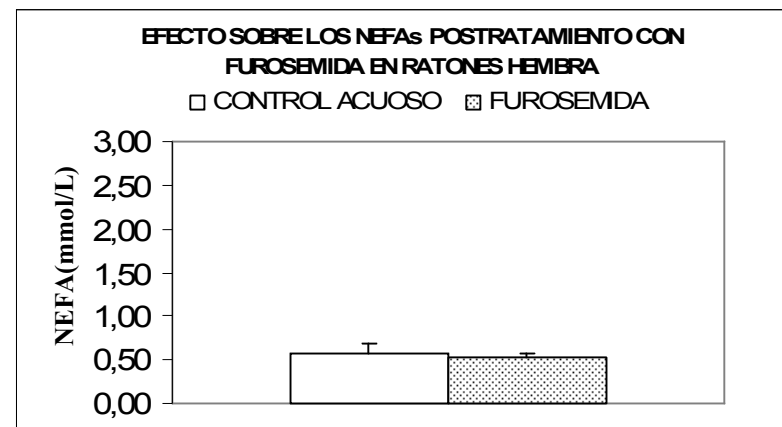
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Graficas No. 1b: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la primera fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

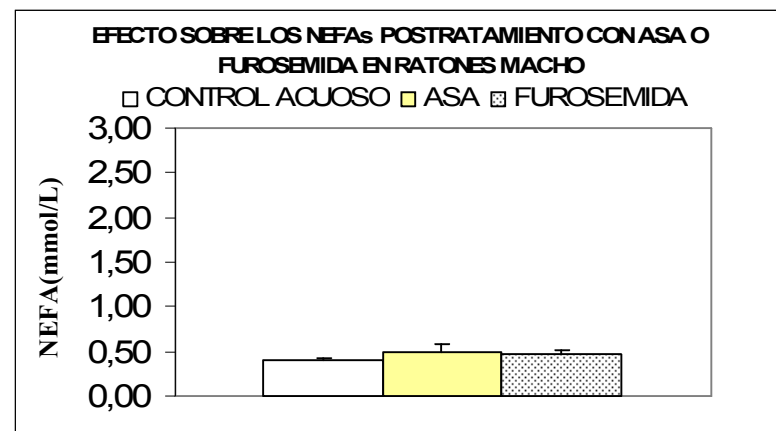
E



F



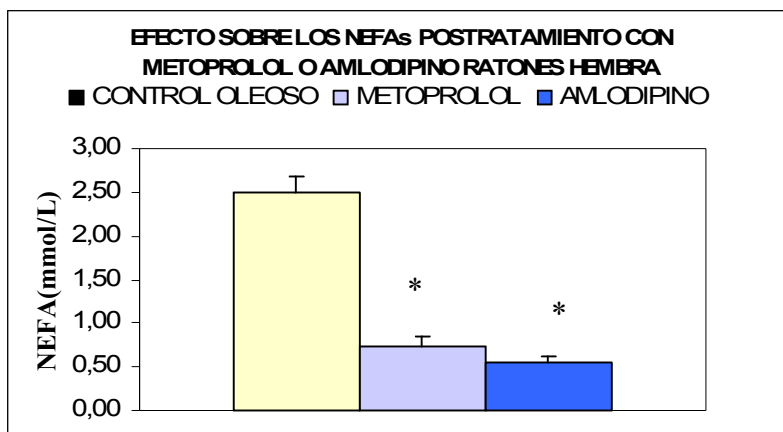
G



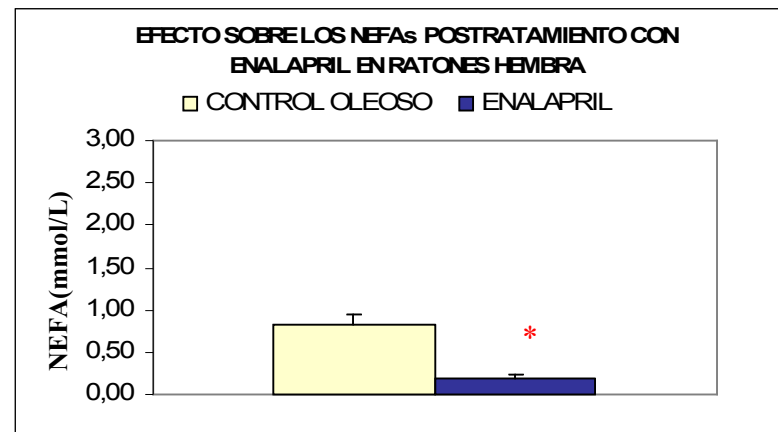
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\*p < 0.05 vs. control).

Graficas No. 1b: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, continuación fármacos de la primera fase:

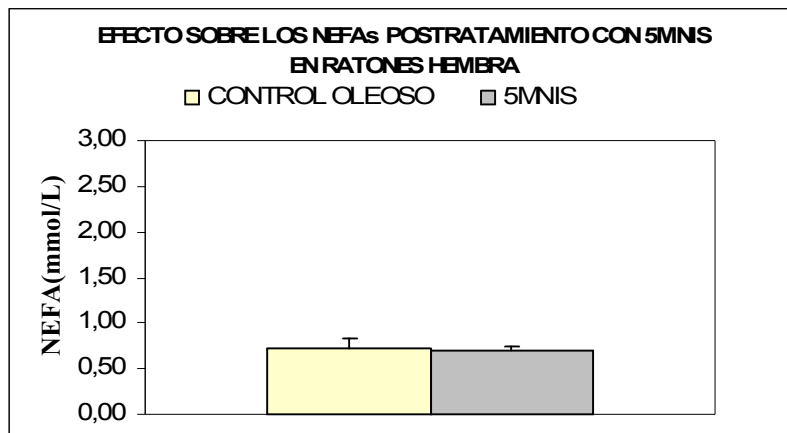
H



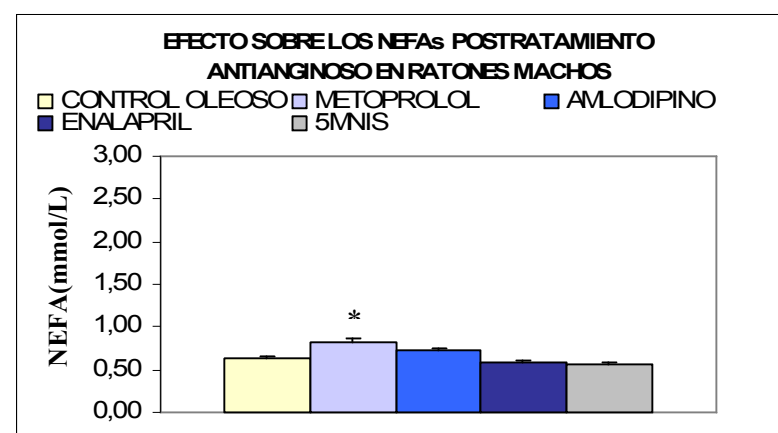
I



J



K



\* Diferencia muy significativa.

Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\*p < 0.05 vs. control).

Resultados de los análisis de lipólisis basal y evocada con forskolina, de adipocitos obtenidos de los animales tratados con cada uno de los fármacos de la primera fase, mediante la metodología citada:

Tablas 3a: Estadística de los resultados de lipólisis, tras el tratamiento crónico con:

		ASPIRINA					
PE		BASAL		FK		UK+FK	
↓		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	2.09	2.09	3.73	2.58	3.76	2.17
N	SD	0.14	0.27	0.37	0.08	0.06	0.11
T	SE	0.09	0.19	0.03	0.06	0.04	0.8
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	1.58	1.38	3.16	2.97	3.84	2.26
A	SD	0.11	0.02	0.07	0.25	0.00	0.08
T	SE	0.07	0.02	0.05	0.18	0.00	0.06

		FUROSEMIDA					
PE		BASAL		FK		UK+FK	
↓		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	2.37	0.75	2.94	1.74	2.95	1.67
N	SD	0.05	0.07	0.03	0.14	0.03	0.33
T	SE	0.04	0.05	0.02	0.10	0.02	0.23
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	2.43	0.74	3.60	1.69	3.63	2.13
A	SD	0.01	0.00	0.03	0.10	0.03	0.35
T	SE	0.00	0.00	0.02	0.07	0.02	0.25

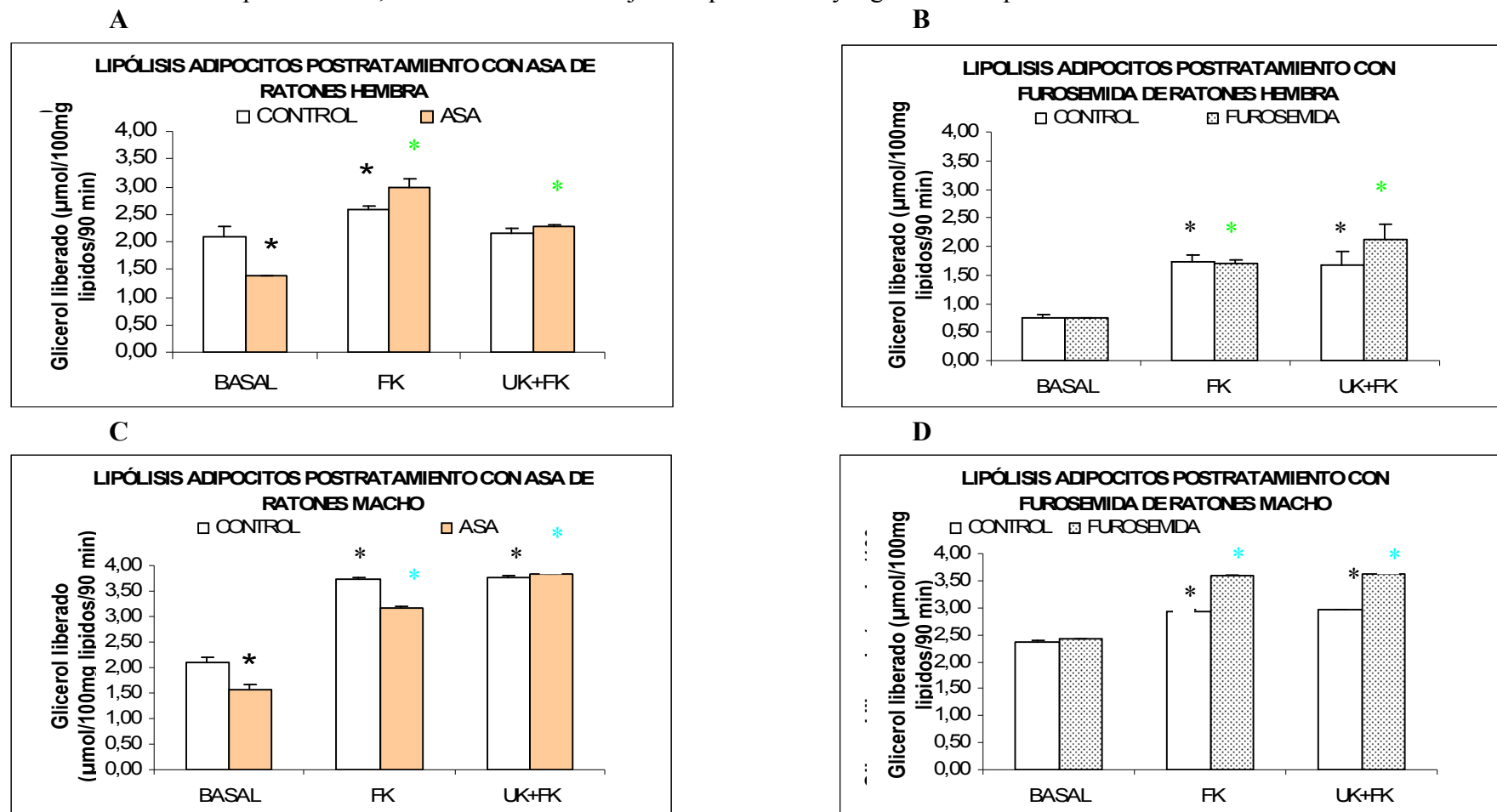
PE: Parámetro estadístico      SD: desviación estandar      M: media      SE: error estandar medio  
n: número de datos (obtenidos de un pool de adipocitos conseguidos de animales tratados animales (5))  
Glicerol liberado ( expresado en valor absoluto  $\mu\text{moles/mg lípidos/90 min}$ )

♂: machos  
♀: hembras

UK:  
FK: Forskolinna



Graficas No. 2a: Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la primera fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:



Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control basal y \* $p < 0.05$  vs. control basal animales tratados).

Tablas 3b: Estadística de los resultados de lipólisis, tras el tratamiento crónico con:

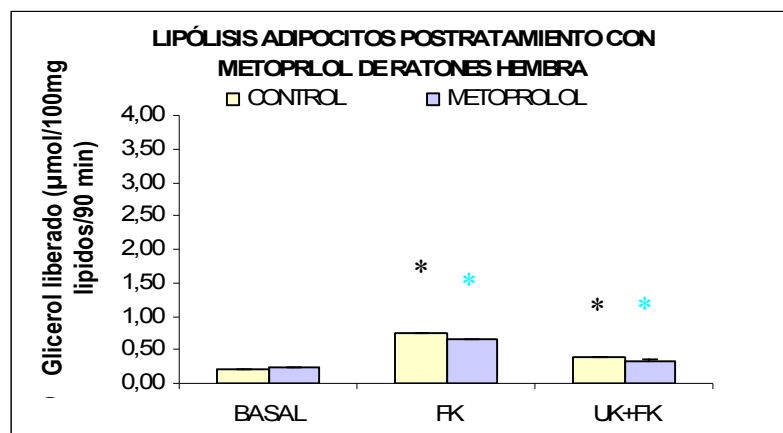
		METOPROLOL					
		BASAL		FK		UK+FK	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	0.69	0.21	2.65	0.74	2.69	0.381
N	SD	0.03	0.01	0.11	0.03	0.01	0.00
T	SE	0.02	0.01	0.07	0.02	0.01	0.00
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	0.74	0.248	2.34	0.653	2.15	0.34
A	SD	0.01	0.00	0.07	0.01	0.07	0.03
T	SE	0.01	0.00	0.05	0.00	0.05	0.02

		AMLODIPINO						
		PE	BASAL		FK		UK+FK	
		↓	♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n		2	2	2	2	2	2
O	M		193	0.68	2.92	2.44	2.79	2.41
N	SD		0.08	0.01	0.09	0.07	0.00	0.07
T	SE		0.05	0.01	0.07	0.05	0.00	0.05
T	n		2	2	2	2	2	2
R	M		1.49	1.3	3.07	1.80	2.75	1.77
A	SD		0.02	0.11	0.10	0.02	0.04	0.02
T	SE		0.01	0.08	0.07	0.02	0.03	0.02

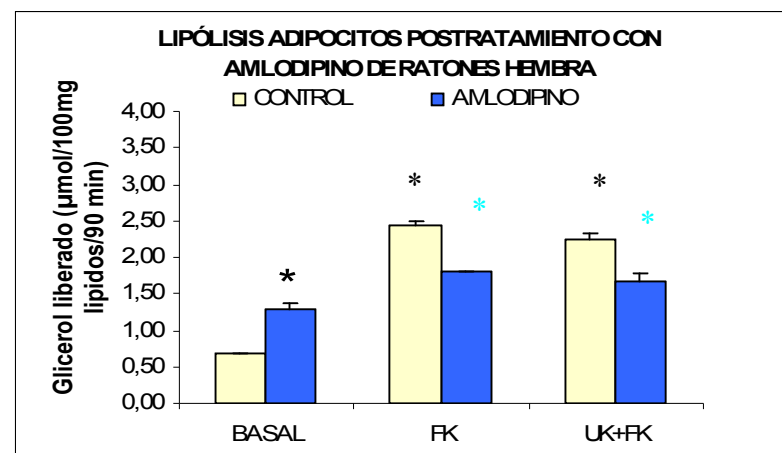
PE: Parámetro estaSD: desviación estandar M: media SE: error estandar medio  
n: número de datos (obtenidos de un pool de adipocitos conseguidos de animales tratados animales (5))  
Glicerol liberado ( expresado en valor absoluto  $\mu$ moles/mg lípidos/90 min)  
♂ : machos UK: Brimodipina (10-6 M)  
♀ : hembras FK: Forskolinna (10-5 M)

Graficas No. 2b: Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la primera fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

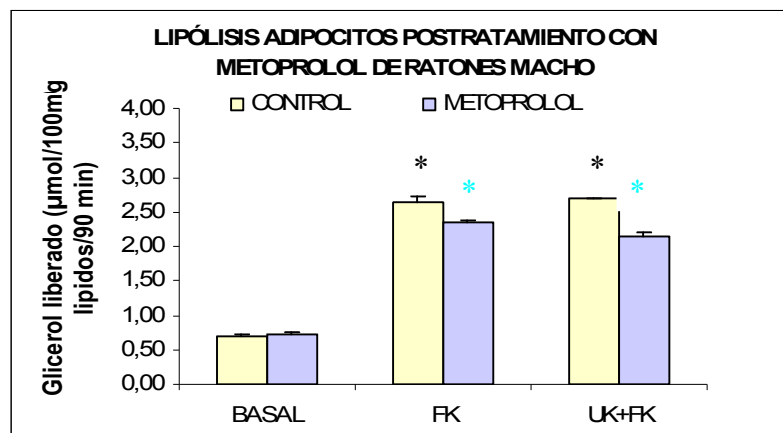
E



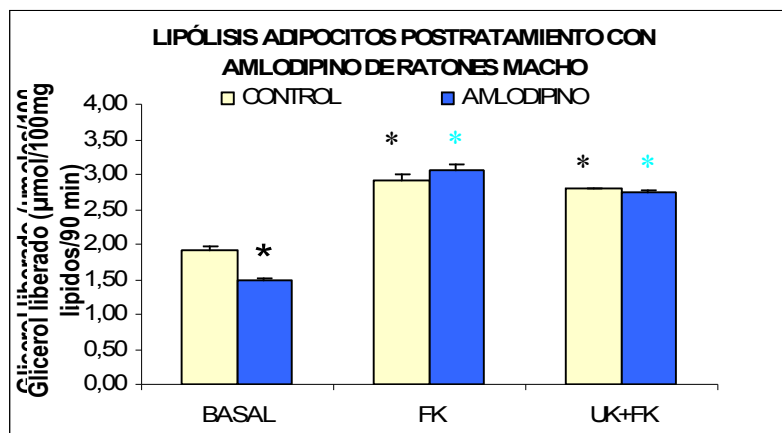
F



G



H



Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control basal y \* $p < 0.05$  vs. control basal animales tratados).

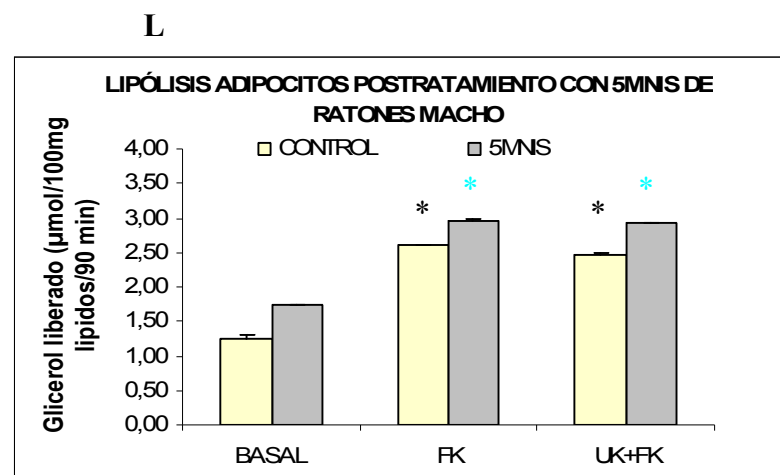
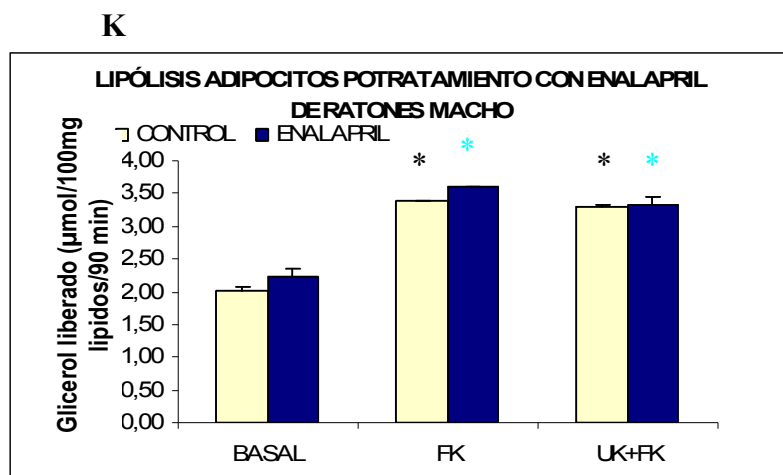
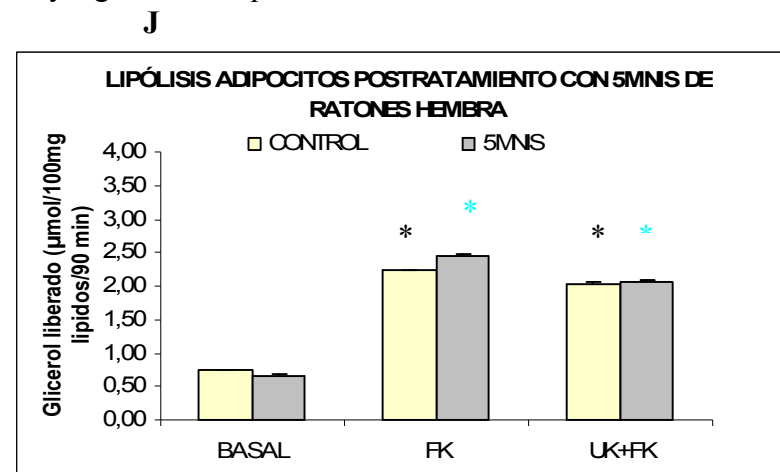
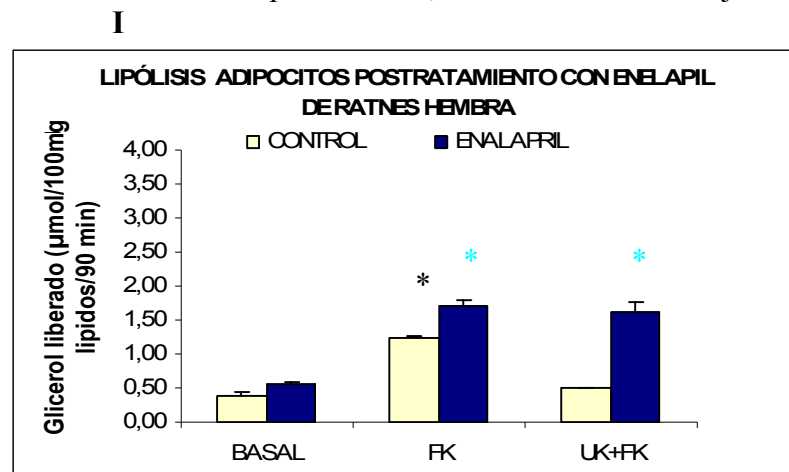
Tablas 3c: Estadística de los resultados de lipólisis, tras el tratamiento crónico con:

		ENALAPRIL					
PE		BASAL		FK		UK+FK	
↓		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	2.01	0.39	3.38	1.25	3.29	0.49
N	SD	0.11	0.08	0.02	0.02	0.03	0.00
T	SE	0.08	0.05	0.01	0.01	0.02	0.00
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	2.24	0.55	3.59	1.70	3.34	1.62
A	SD	0.15	0.05	0.02	0.12	0.15	0.18
T	SE	0.10	0.03	0.02	0.09	0.10	0.12

		5MNIS					
PE		BASAL		FK		UK+FK	
↓		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	6	2	4	2	4
O	M	1.24	0.74	2.61	2.23	2.46	2.03
N	SD	0.1	0.33	0.00	1.06	0.05	0.91
T	SE	0.07	0.13	0.00	0.53	0.03	0.46
T	n	2	6	2	4	2	4
R	M	1.73	0.67	2.95	2.44	2.93	2.07
A	SD	0.00	0.26	0.07	0.27	0.02	.50
T	SE	0.00	0.10	0.05	0.14	0.01	0.25

PE: Parámetro estaSD: desviación estandar M: media SE: error estandar medio  
n: número de datos (obtenidos de un pool de adipocitos conseguidos de animales tratados animales (5))  
Glicerol liberado ( expresado en valor absoluto  $\mu$ moles/mg lípidos/90 min)  
♂ : machos UK: Brimodipina (10-6 M)  
♀ : hembras FK: Forskolinna (10-5 M)

Graficas No. 2c: Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la primera fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:



Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control basal y \* $p < 0.05$  vs. control basal animales tratados).

Tabla 4a: Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas respectivamente por Forskolina (FK) y Brimonidina (UK), frente a las lipólisis de las muestras de ratones hembra (animales control BASAL y control de los tratados con fármacos de la primera fase (BASALT)).

<b>ASA Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
2,093	2,574	22,98	2,167	-15,81	1,377	2,972	115,83	2,264	-23,82	92,85	-8,01

<b>FUROSEMIDA Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,752	1,745	132,05	1,673	-4,13	0,743	1,688	127,19	2,129	26,13	-4,86	30,25

<b>METOPROLOL Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,208	0,736	253,85	0,381	-48,23	0,248	0,653	163,31	0,337	-48,39	-90,54	-0,16

<b>AMLODIPINO Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,684	2,443	257,16	2,408	-1,43	1,296	1,801	38,97	1,774	-1,50	-218,20	-0,07

<b>ENALAPRIL Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,394	1,249	217,01	0,491	-60,69	0,555	1,704	207,03	1,624	-4,69	-9,98	55,99

<b>5MNIS Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,736	2,227	202,58	2,025	-9,07	0,671	2,442	263,93	2,072	-15,15	61,35	-6,08

FK: Forskolina (10-5 M)

BASAL: Lipólisis en muestras de animales control sin tratamiento

UK: Brimonidina (10-6 M)

BASALT: Lipólisis en muestras de animales control de los tratados con fármacos antianginosos

%↑FK: Porcentaje de incremento de la lipólisis inducida por FK

%↓UK: Porcentaje de reducción causada por UK sobre la lipólisis inducida por FK

DIF.%↑FK: Diferencia entre la lipólisis inducida por FK en los animales tratados y los no tratados

DIF.%↓UK: Diferencia entre la reducción producida por UK en los animales tratados y los no tratados

La T significa muestras provenientes de animales tratados con el respectivo fármaco

Tabla 4b: Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas respectivamente por Forskolina (FK) y Brimonidina (UK), frente a las lipólisis de las muestras de ratones macho (animales control BASAL y control de los tratados con fármacos de la primera fase (BASALT)).

<b>ASA Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
2,085	3,732	78,99	3,764	0,86	1,576	3,163	100,70	3,845	21,56	21,71	20,70

<b>FUROSEMIDA Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
2,368	2,940	24,16	2,953	0,44	2,427	3,580	47,51	3,626	1,28	23,35	0,84

<b>METOPROLOL Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,693	2,647	281,96	2,694	1,78	0,739	2,342	216,91	2,148	-8,28	-65,05	-10,06

<b>AMLODIPINO Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
1,926	2,922	51,71	2,788	-4,59	1,492	3,069	105,70	2,750	-10,39	53,98	-5,81

<b>ENALAPRIL Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
2,008	3,379	68,28	3,293	-2,55	2,238	3,589	60,37	3,337	-7,02	-7,91	-4,48

<b>5MNIS Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
1,243	2,61	109,98	2,456	-5,90	1,728	2,947	70,54	2,927	-0,68	-39,43	5,22

FK: Forskolina (10-5 M)

BASAL: Lipólisis en muestras de animales control sin tratamiento

UK: Brimonidina (10-6 M)

BASALT: Lipólisis en muestras de animales control de los tratados con fármacos antianginosos

%↑FK: Porcentaje de incremento de la lipólisis inducida por FK

%↓UK: Porcentaje de reducción causada por UK sobre la lipólisis inducida por FK

DIF.%↑FK: Diferencia entre la lipólisis inducida por FK en los animales tratados y los no tratados

DIF.%↓UK: Diferencia entre la reducción producida por UK en los animales tratados y los no tratados

La T significa muestras provenientes de animales tratados con el respectivo fármaco

Resultados de los análisis de glucosa, en las muestras de plasma obtenidas de los animales tratados con cada uno de los fármacos antianginosos de estudio:

Tablas 5: Estadística de los resultados de glucosa plasmática

		F A R M A C O							
P B ↓	P E ↓	ASPIRINA				FUROSEMIDA			
		♂		♀		♂		♀	
		C	P	C	P	C	P	C	P
G	n	3	5	2	4	2	5	3	4
L	M	10,63	10,77	11,00	11,01	7,52	6,64	6,23	6,30
U	SD	1,68	2,05	0,28	2,53	0,59	1,68	0,88	2,13
C	SE	0,97	0,92	0,20	1,27	0,42	0,75	0,62	1,07

		F A R M A C O															
P B ↓	P E ↓	METOPROLOL				AMLODIPINO				ENALAPRIL				5MNIS			
		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀	
		C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P		
G	n	2	5	2	8	3	4	2	5	3	5	3	4	3	5	4	11
L	M	6,61	7,97	15,76	6,15	6,71	10,78	15,76	10,88	10,01	10,02	6,18	7,34	6,27	6,63	9,79	9,08
U	SD	2,28	1,28	1,87	1,97	0,86	7,14	1,87	2,34	2,76	0,88	1,27	1,04	1,35	2,00	4,58	1,80
C	SE	1,61	0,57	1,32	0,70	0,50	3,57	1,32	1,04	1,59	0,39	0,74	0,52	0,95	0,89	2,29	0,81

PB: Parámetro biológico

PE: Parámetro estadístico

GLUC: Glucosa (mmol/L)

C: animales control

P: animales tratados

n: número de datos

M: media

SD: desviación estandar

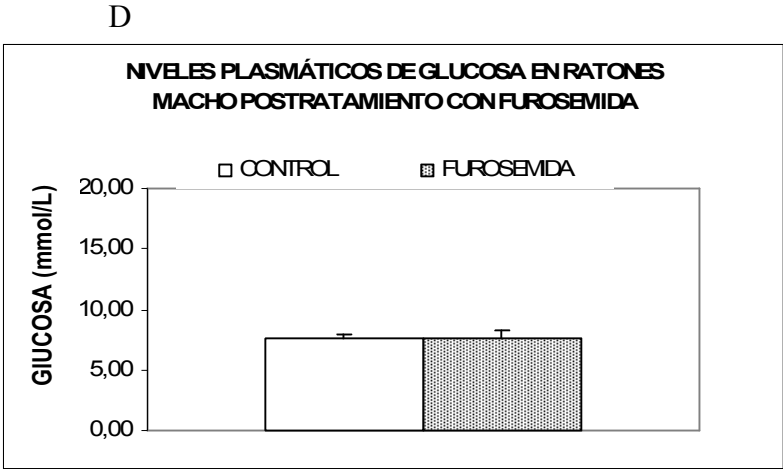
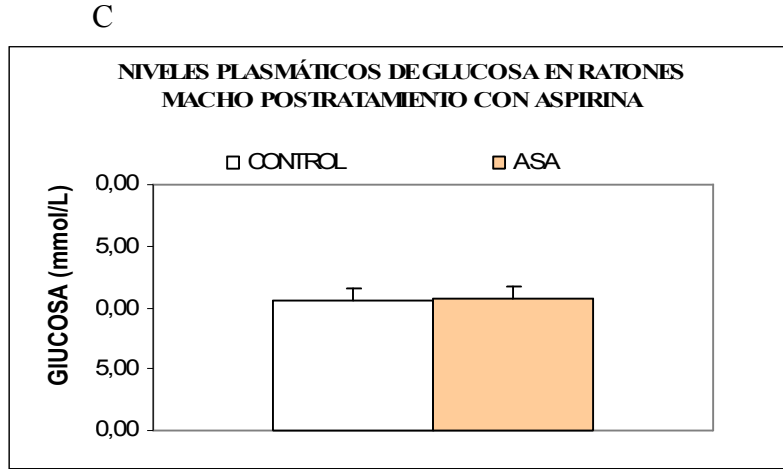
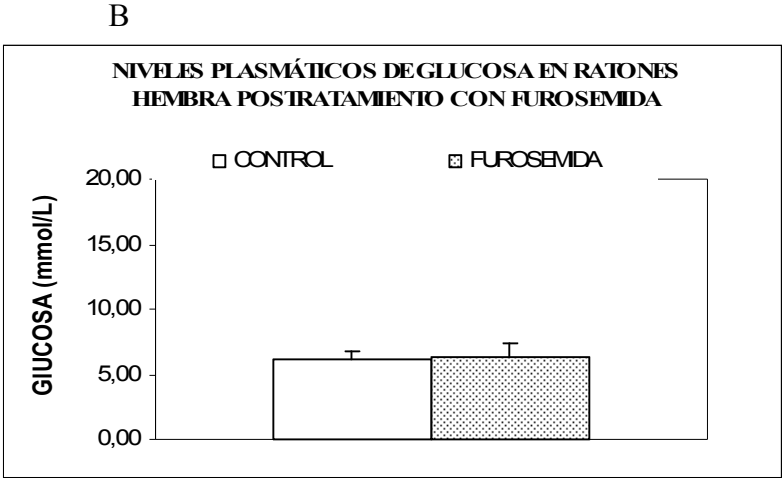
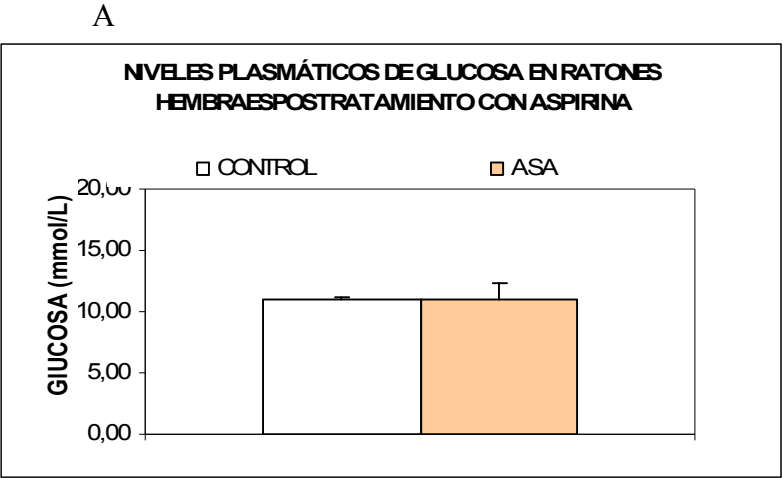
SE: error estandar medio

♂: machos

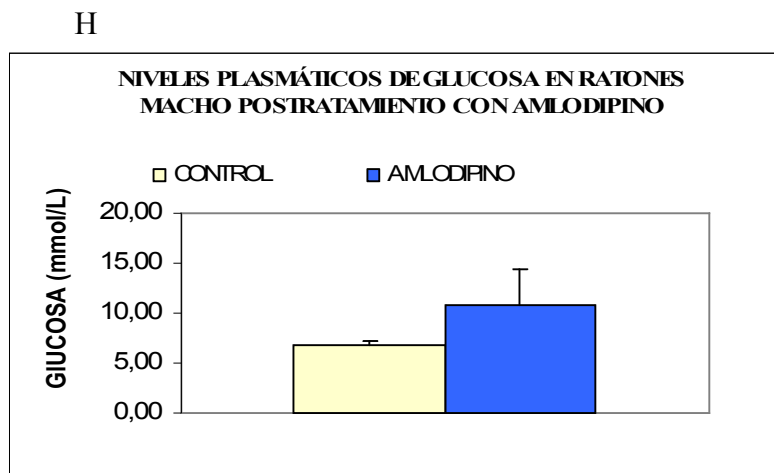
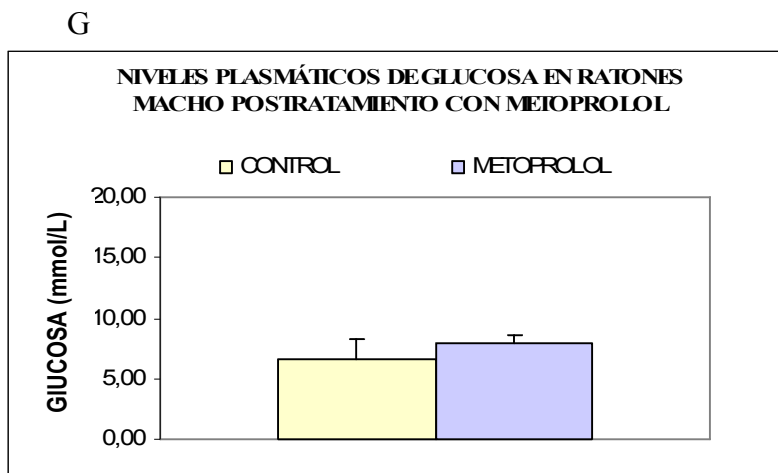
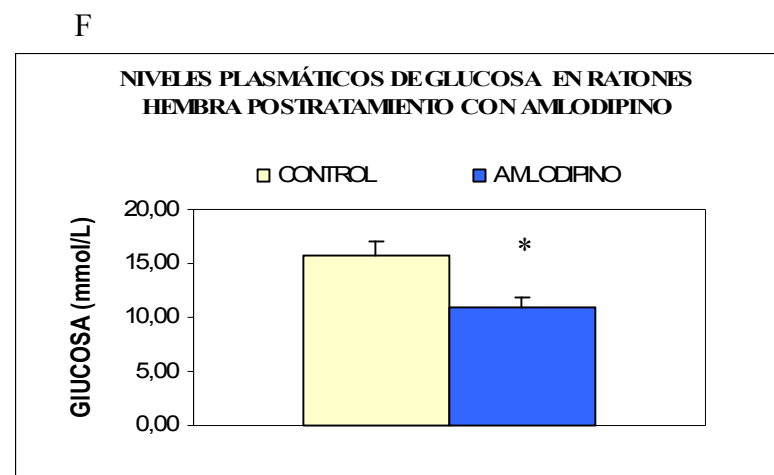
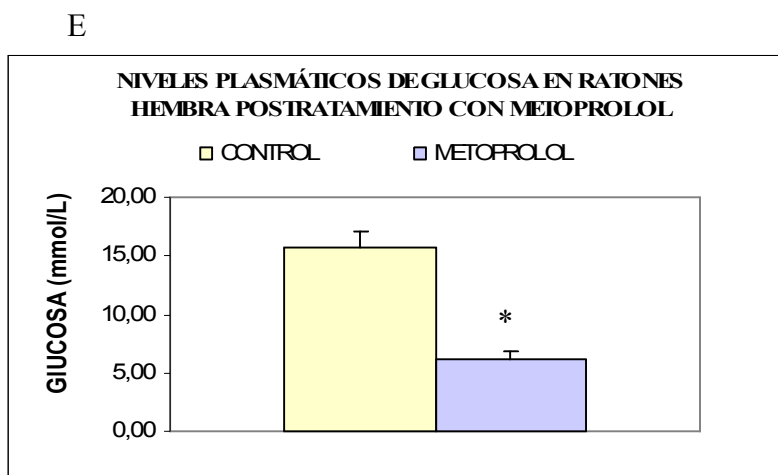
♀: hembras



Gráficas No. 3a: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:



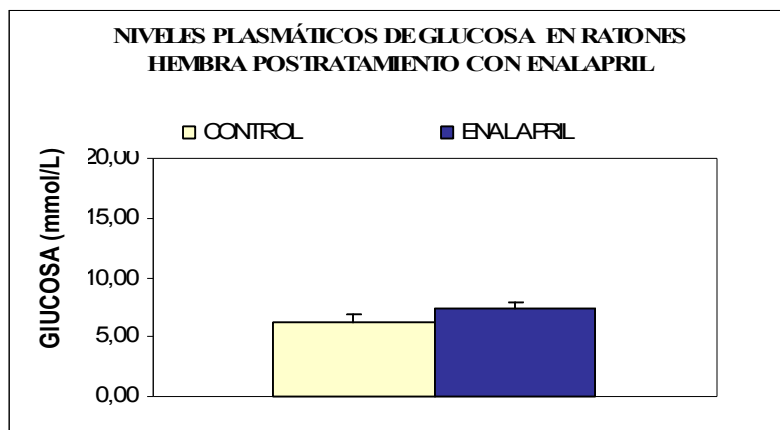
Gráficas No. 3b: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, continuación:



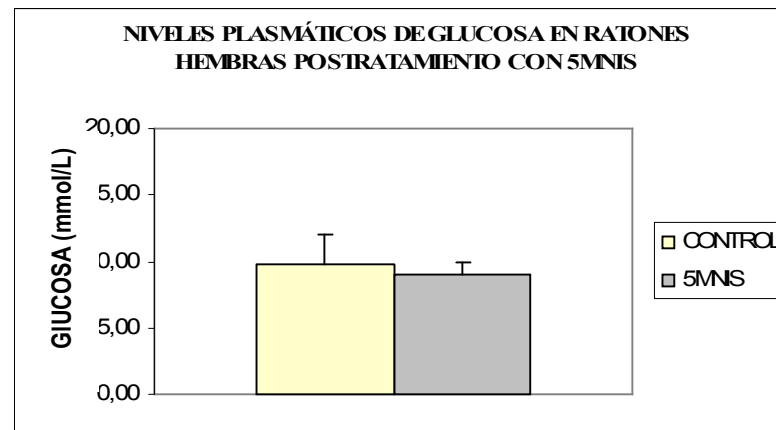
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Gráficas No. 3c: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de glucosa, continuación:

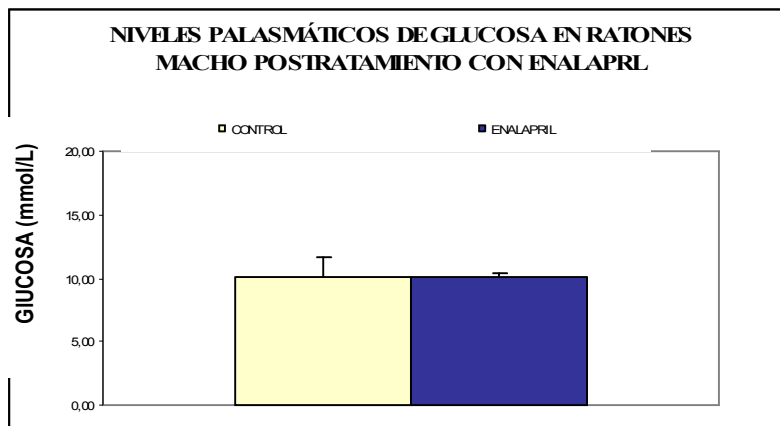
J



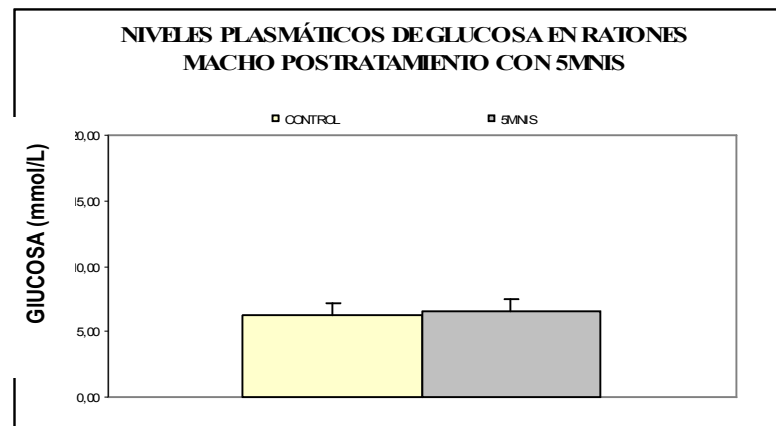
K



L



M



Resultados de los análisis de insulina, en las muestras de plasma obtenidas de ratones hembra tratadas con algunos de los fármacos de la primera fase del estudio:

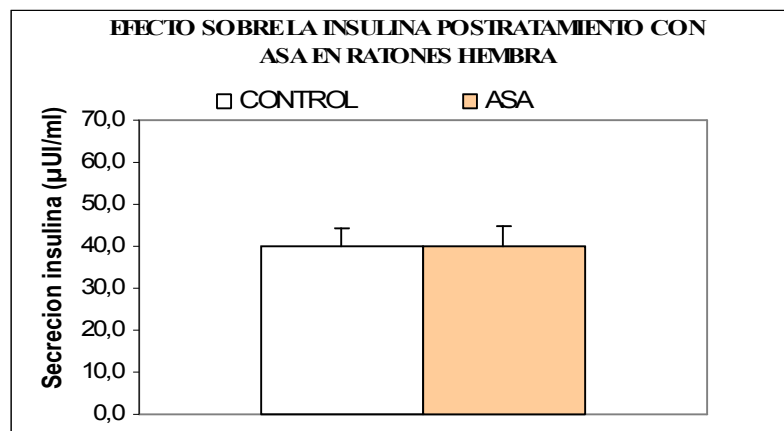
Tablas 6: Estadística de los resultados de secreción de insulina *in vivo*

		F		A		R		M		A		C		O	
		ASA		FUROSEMI		ENALAPRIL		5MNIS							
		♀		♀		♀		♀							
		C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P
I	n														
N	M	39,84	40,00	36,95	36,08	44,85	39,01	26,76	29,07						
S	SD	17,19	11,05	11,76	25,56	28,57	36,58	7,57	14,02						
U	SE	4,44	4,94	5,26	8,521	20,2	18,29	3,78	8,093						

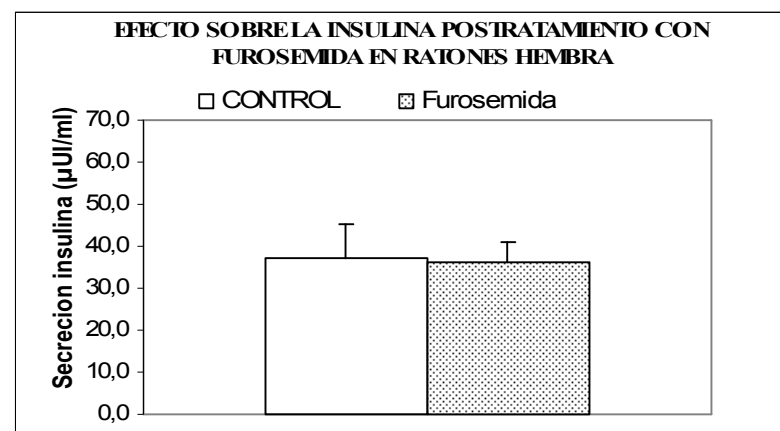
PB: Parámetro biológico      n: número de datos      SD: desviación estandar  
 PE: Parámetro estadístico      M: media      SE: error estandar medio  
 INSU: Secreción insulina ( $\mu$ UI/ml)      C: animales control  
 ♀: hembras      P: animales tratados

Gráficas No. 4: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de insulina *in vivo*, después del tratamiento de los ratones hembra con ASA, furosemida, enalapril y 5MNIS, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

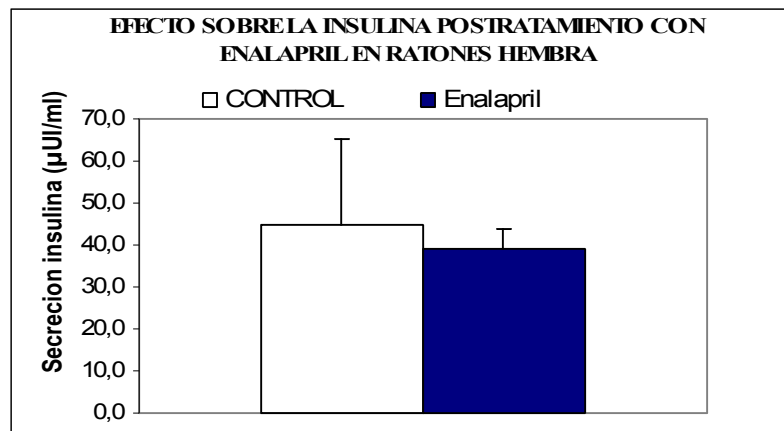
A



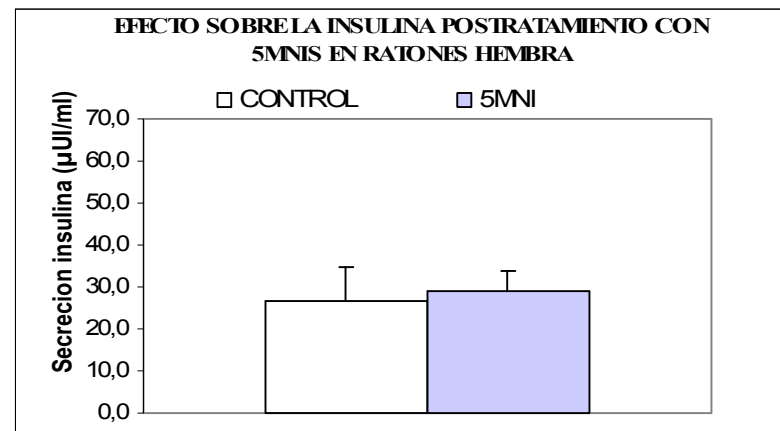
B



C



D



**Tabla 7. Resultados de Secrecion de Insulina *in vitro* de Islotes Aislados de Ratones Hembra Postratamiento con:**  
**5-MONONITRATO DE ISOSORBIDE**

<b>*RESULTADOS DEL CONTROL</b>								
	<b>G3mM</b>	<b>%</b>	<b>G8mM</b>	<b>%</b>	<b>G15 mM</b>	<b>%</b>	<b>G 30mM</b>	<b>%</b>
<b>MEDIA</b>	<b>12,25</b>	<b>100,00</b>	<b>23,13</b>	<b>188,80</b>	<b>36,82</b>	<b>300,58</b>	<b>58,94</b>	<b>481,22</b>
S DESV	4,70	38,34	12,11	98,87	10,44	85,20	12,06	98,45
ST ERROR	2,10	17,15	5,42	44,22	4,67	38,10	5,39	44,03
<b>*RESULTADOS DE RATONES TRATADOS CON 5MNI CRONICAMENTE</b>								
<b>MEDIA</b>	<b>15,17</b>	<b>100,00</b>	<b>25,34</b>	<b>167,05</b>	<b>60,52</b>	<b>398,97</b>	<b>69,78</b>	<b>460,06</b>
S DESV	4,56	30,05	15,95	105,16	16,32	107,59	26,09	171,99
ST ERROR	2,04	13,44	7,13	47,03	7,30	48,12	11,67	76,92

**FUROSEMIDA**

<b>*RESULTADOS DEL CONTROL</b>								
	<b>G3mM</b>	<b>%</b>	<b>G8mM</b>	<b>%</b>	<b>G15 mM</b>	<b>%</b>	<b>G 30mM</b>	<b>%</b>
<b>MEDIA</b>	<b>14,75</b>	<b>100,00</b>	<b>47,28</b>	<b>320,52</b>	<b>74,19</b>	<b>502,88</b>	<b>90,21</b>	<b>611,50</b>
S DESV	5,52	37,40	20,54	139,23	32,39	219,57	15,00	101,68
ST ERROR	2,47	16,73	9,19	62,27	14,49	98,19	6,71	45,47
<b>*RESULTADOS DE RATONES TRATADOS CON FUROSEMIDA CRONICAMENTE</b>								
	<b>G3mM</b>	<b>%</b>	<b>G8mM</b>	<b>%</b>	<b>G15 mM</b>	<b>%</b>	<b>G 30mM</b>	<b>%</b>
<b>MEDIA</b>	<b>23,60</b>	<b>100,00</b>	<b>30,21</b>	<b>128,04</b>	<b>75,47</b>	<b>319,82</b>	<b>77,13</b>	<b>326,88</b>
S DESV	6,08	25,76	9,64	40,85	44,71	189,47	17,87	75,71
ST ERROR	2,72	11,52	4,31	18,27	19,99	84,73	7,99	33,86

**CAPTOPRIL 50µM**

<b>*RESULTADOS DEL CONTROL</b>						
	<b>G3mM</b>	<b>%</b>	<b>G15 mM</b>	<b>%</b>	<b>G 30mM</b>	<b>%</b>
<b>MEDIA</b>	<b>9,75</b>	<b>100,00</b>	<b>45,97</b>	<b>471,61</b>	<b>77,69</b>	<b>797,00</b>
S DESV	4,67	47,87	16,92	173,57	15,17	155,68
ST ERROR	2,09	21,41	7,57	77,62	6,79	69,62
<b>*RESULTADOS DE ISLOTES DE RATÓN TRATADOS CON CAPTOPRIL 50µM (AGUDO)</b>						
	<b>G3mM</b>	<b>%</b>	<b>G15 mM</b>	<b>%</b>	<b>G 30mM</b>	<b>%</b>
<b>MEDIA</b>	<b>9,74</b>	<b>99,94</b>	<b>41,24</b>	<b>423,07</b>	<b>90,86</b>	<b>932,11</b>
S DESV	1,91	19,60	7,02	71,99	28,56	293,04
ST ERROR	0,85	8,77	3,14	32,19	12,77	131,05

Gráficas No. 5: Representación de la secreción de insulina de islotes aislados de ratones hembra postratamiento con los fármacos citados en respuesta a la glucosa *in vitro*, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

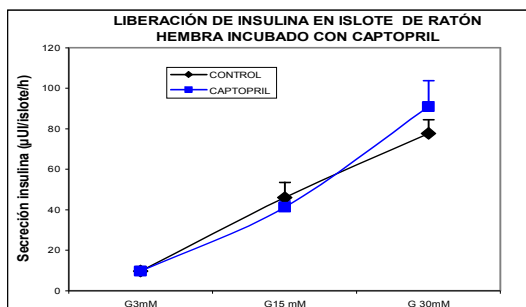
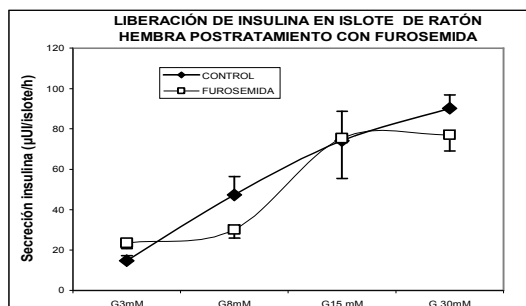
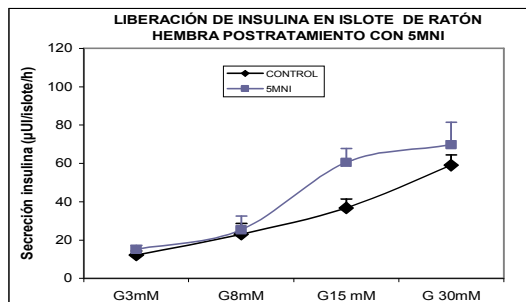


Tabla 8a. Valores de parametros determinados en ratones macho (controles vs. Tratados) 1ª fase

FÁRMACO*	ADIPONECTI GLUCOSA NEFAs						LIPOLISIS							
	ADIPONECTI		GLUCOSA		NEFAs		CB	FK	%↑	CBT	%CC	FKT	%↑	%
	C	P	C	P	C	P								
Aspirina	4,28	3,8	10,63	10,77	0,39	0,5	2,09	3,73	78,47	1,58	-24,40	3,16	100,00	-15,28
Furosemida	4,28	2,44	7,52	6,64	0,39	0,48	2,37	2,94	24,05	2,43	2,53	3,58	47,33	21,77
Metoprolol	4,74	5,58	6,61	7,97	0,63	0,82	0,69	2,65	284,06	0,74	7,25	2,34	216,22	-11,70
Amlodipino	4,74	3,26	6,71	10,78	0,63	0,73	1,93	2,92	51,30	1,49	-22,80	3,07	106,04	5,14
Enalapril	4,74	4,35	10,01	10,02	0,63	0,58	2,01	3,38	68,16	2,24	11,44	3,59	60,27	6,21
5MNIS	4,74	2,22	6,27	6,63	0,63	0,56	1,24	2,60	109,68	1,73	39,52	2,95	70,52	13,46
Media	4,65		7,42		0,58		1,65	2,90	107,45					
Error estand.	0,09		0,68		0,05		0,30	0,14	46,29					

Tabla 8b. Valores de parametros determinados en ratones hembra (controles vs. Tratados) 1ª fase

FÁRMACO*	ADIPONECTI GLUCOSA NEFAs						LIPOLISIS							
	ADIPONECTI		GLUCOSA		NEFAs		CB	FK	%↑	CBT	%CC	FKT	%↑	%
	C	P	C	P	C	P								
Aspirina	7,62	7,66	11,00	11,01	2,05	2,30	2,09	2,57	22,97	1,38	-33,97	2,97	115,22	15,56
Furosemida	7,62	7,93	6,23	6,30	0,58	0,53	0,75	1,75	133,33	0,74	-1,33	1,69	128,38	-3,43
Metoprolol	7,82	6,01	15,76	6,15	1,20	0,74	0,20	0,73	265,00	0,25	25,00	0,65	160,00	-10,96
Amlodipino	7,82	6,52	15,76	10,88	2,50	0,55	0,68	2,44	258,82	1,30	91,18	1,80	38,46	-26,23
Enalapril	7,82	9,08	6,18	7,34	0,83	0,20	0,39	1,25	220,51	0,55	41,03	1,70	209,09	36,00
5MNIS	7,82	6,79	9,79	9,08	0,73	0,69	0,74	2,23	201,35	0,67	-9,46	2,44	264,18	9,42
Media	7,78		10,74		1,17		0,55	1,68	215,80					
Error estand.	0,04		2,15		0,35		0,11	0,31	23,77					

C: Animales control

%↑ : Porcentaje de aumento de la lipólisis basal evocada por FK

P: Animales tratados

% : Porcentaje de reducción o aumento de la lipólisis evocada, producto del tratamiento (\*)

% de aumento o reducción de la lipólisis FKT vs. FK por el (\*)

CB: Animales control basal CBT: Animales control tratados %CC: Porcentaje de diferencia entre CBT y CB



Tabla 9: Estadística de los niveles plasmáticos de adiponectina, NEFA y glucosa en los animales tratados con los fármacos de la segunda fase.

P B ↓	P E ↓	F A R M A C O																				
		ROSIGLITAZONA				TELMISARTAN				GLIBENCLAMIDA				METFORMINA				SIMVASTATINA				
		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀		
		C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	P	
A	n	3	5	4	4	4	6	4	5	5	5	4	4	5	4	4	4	4	3	4	4	3
D	M	4.17	3.37	4.88	6.08	3.15	2.90	7.31	7.76	5.79	4.85	6.59	8.45	4.16	3.43	6,79	5.32	1.84	1.89	5.83	4.04	
I	SD	0.43	0.92	0.93	1.19	1.48	1.00	1.74	1.50	1.96	1.41	1.31	1.82	0.83	1.15	3.04	3.04	1.60	0.90	1.79	2.04	
P	SE	0.25	0.41	0.46	0.59	0.74	0.41	0.87	0.67	0.88	0.63	0.65	0.91	0.37	0.58	1.52	.52	0.92	0.45	0.89	1.18	
N	n	3	5	3	3	5	6	5	6	3	5	4	4	4	3	4	4	3	3	3	4	
E	M	0.82	0.49	0.55	0.60	0.73	0.64	0.75	0.63	1.19	0.98	0.93	0.97	0.88	0.94	1.19	0.85	0.25	0.33	0.56	0.48	
F	SD	0.05	0.05	0.06	0.01	0.22	0.11	0.06	0.09	0.11	0.15	0.09	0.13	0.02	0.08	0.39	0.06	0.12	0.06	0.21	0.08	
A	SE	0.03	0.02	0.03	0.00	0.10	0.05	0.03	0.04	0.06	0.07	0.05	0.06	0.01	0.05	0.19	0.03	0.07	0.03	0.12	0.04	
G	n	3	4	3	3	3	5	5	6	3	5	3	5	3	3	3	4	3	3	3	3	
L	M	13.32	8.70	9.67	4.16	10.38	10.19	10.42	11.45	12.73	10.47	12.21	13.51	9.19	7.00	9.92	8.30	9.21	7.05	11.34	8.50	
U	SD	2.11	2.21	1.91	2.25	4.52	4.10	2.43	2.46	2.28	3.66	2.82	2.54	3.05	0.22	1.42	1.27	4.24	1.68	1.10	2.24	
C	SE	1.22	1.10	1.11	1.30	2.61	1.84	1.09	1.01	1.32	1.64	1.63	1.14	1.76	0.13	0.82	0.63	2.45	0.97	0.63	1.29	

PB: Parámetro biológico

n: número de datos

SD: desviación estandar

PE: Parámetro estadístico

M: media

SE: error estandar medio

ADIP: adiponectina (µg/mL)

♂: machos

NEFA: ácidos grasos libres no estrificados (mmol/L)

♀: hembras

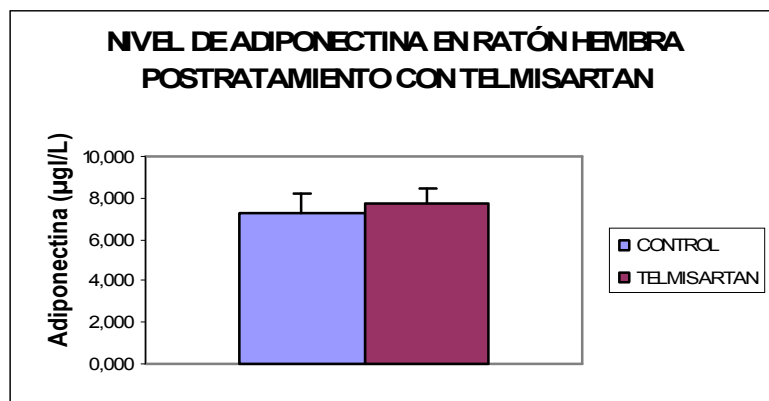
GLUC: Glucosa (mmol/L)

C: animales control

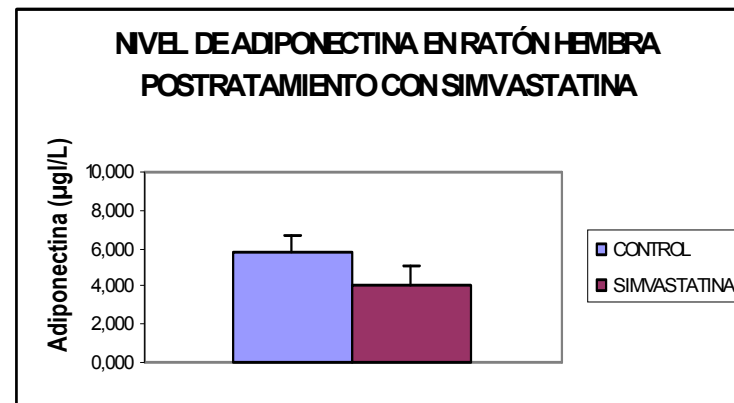
P: animales tratados

Graficas No. 5a: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

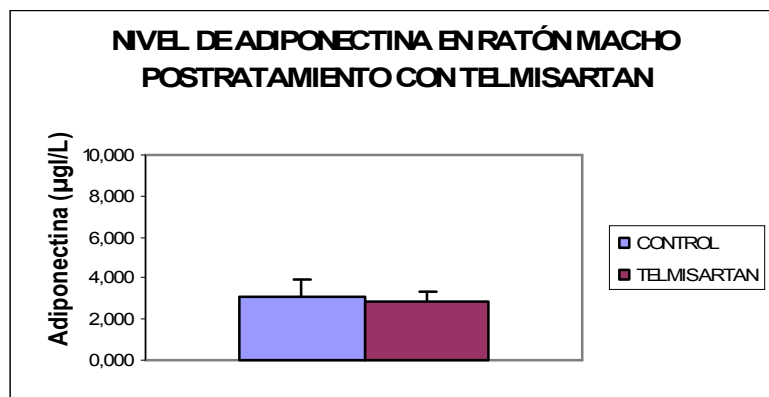
A



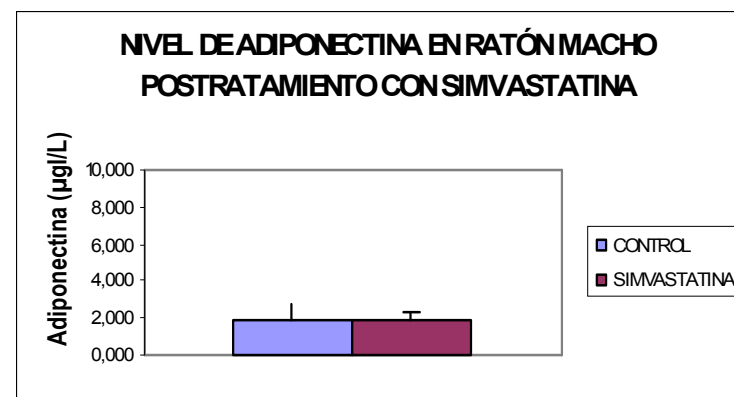
B



C



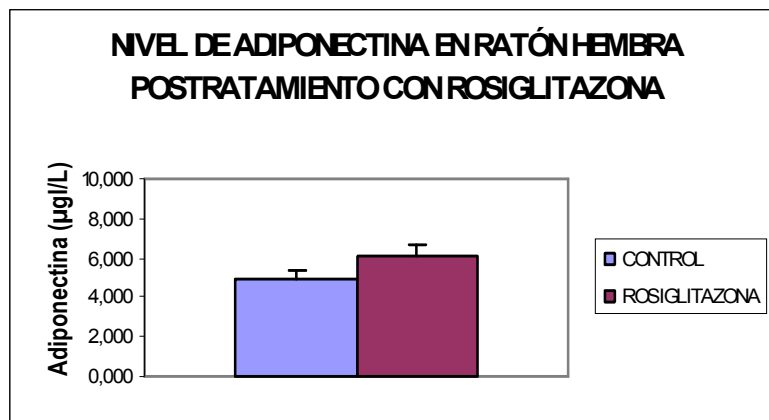
D



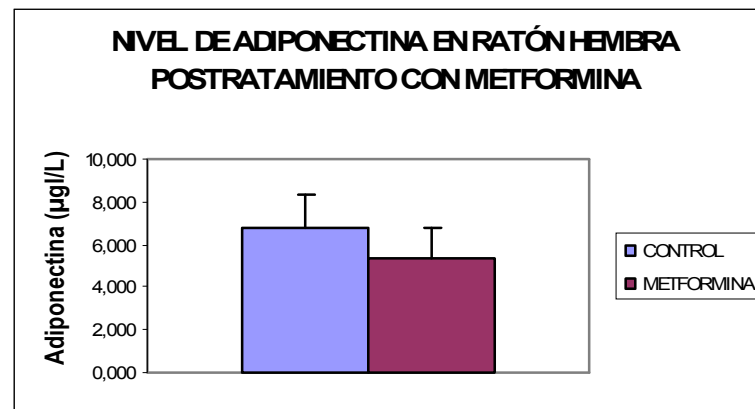
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Graficas No. 5b: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

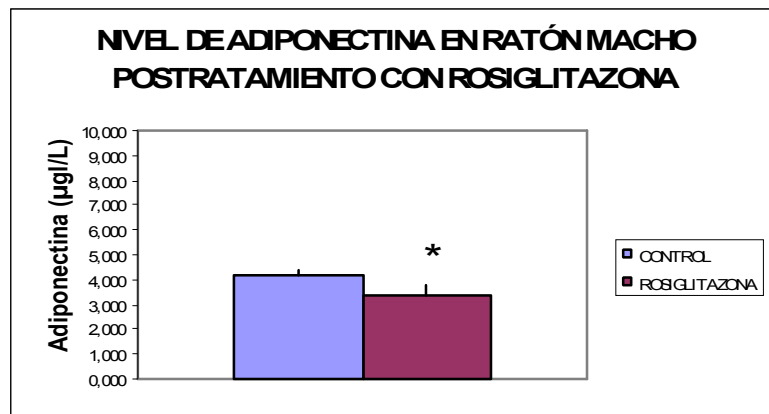
E



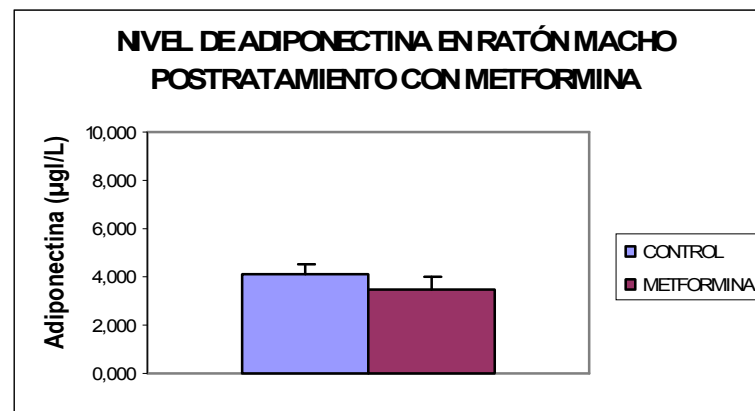
F



G



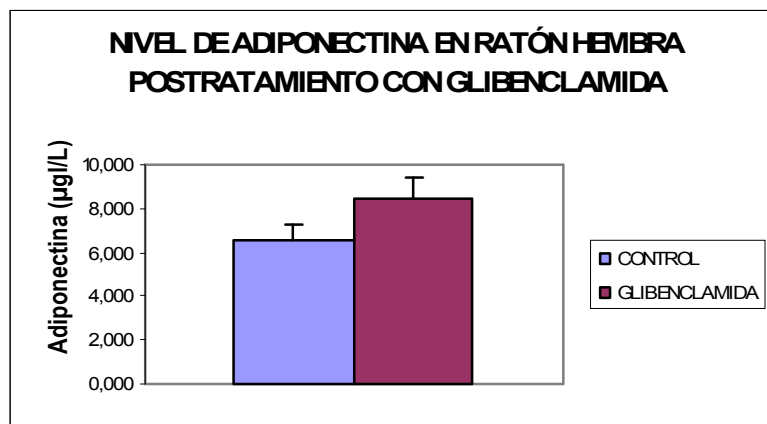
H



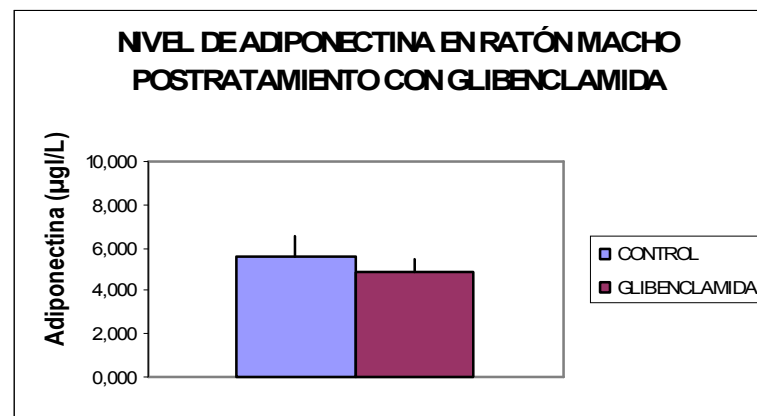
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Graficas No. 5c: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de adiponectina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

I



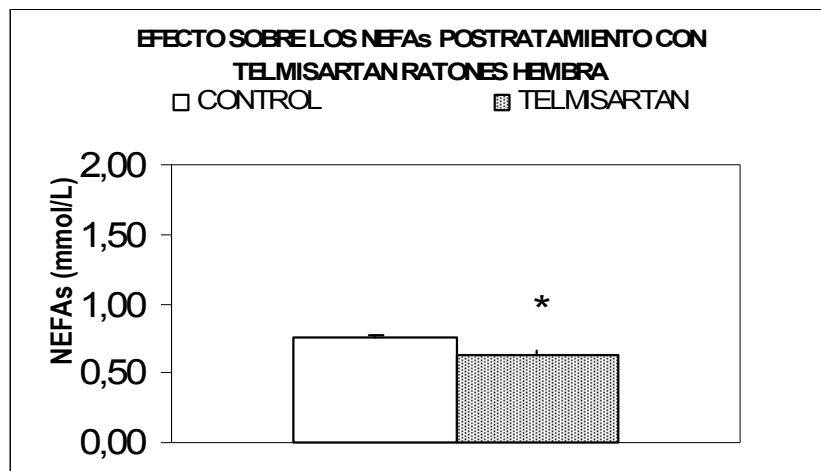
J



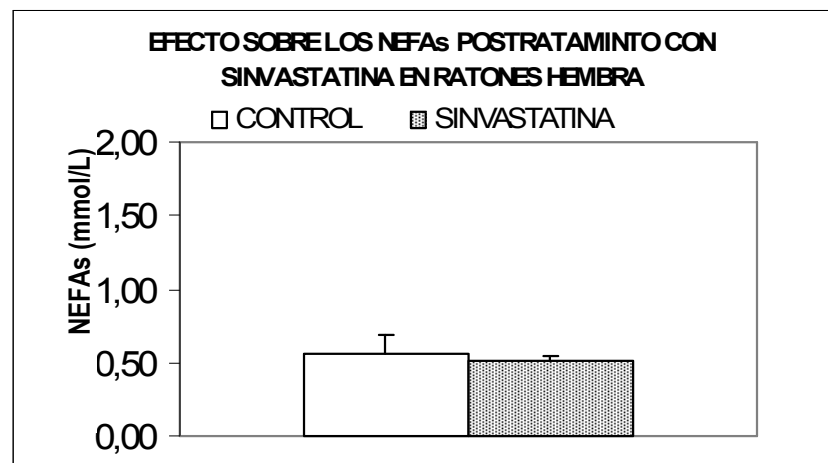
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\*p < 0.05 vs. control).

Graficas No. 6d: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

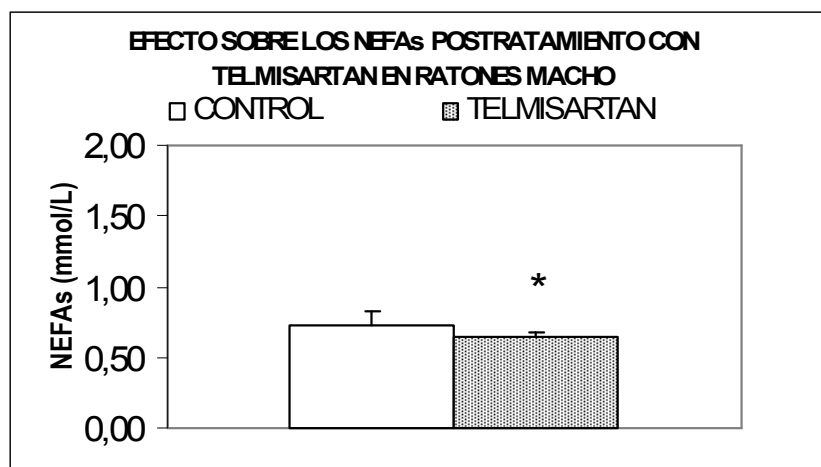
A



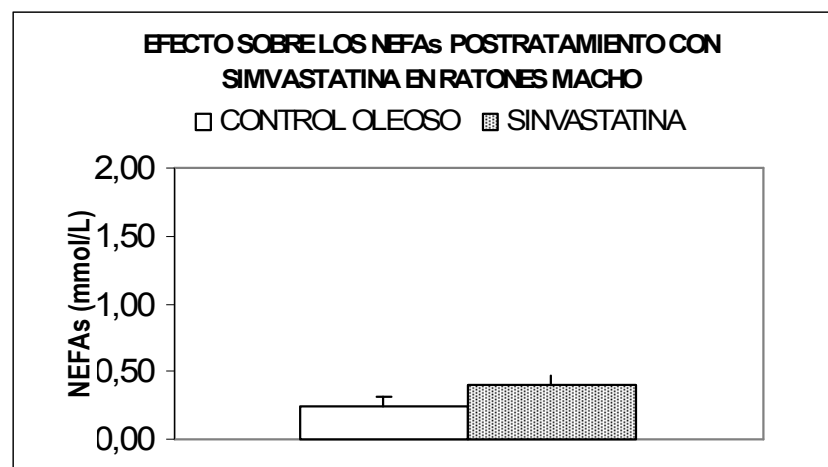
B



C



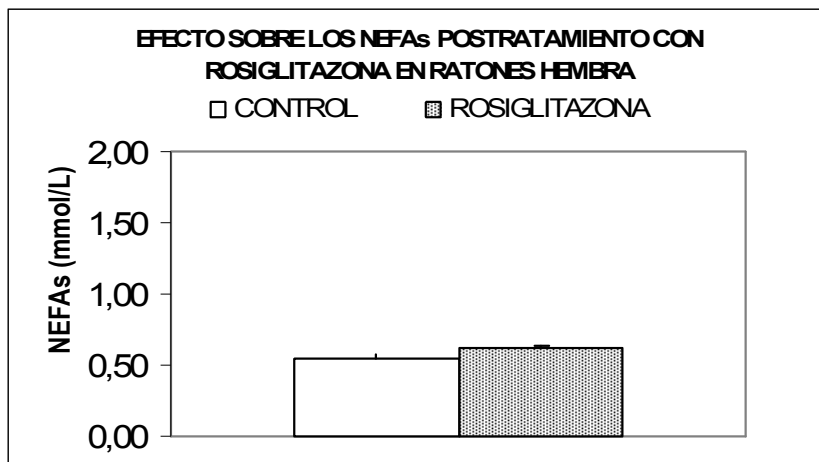
D



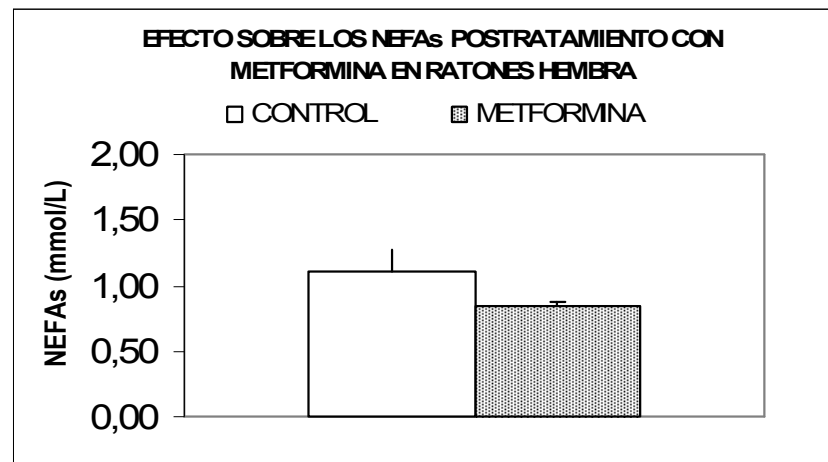
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Graficas No. 6e: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos

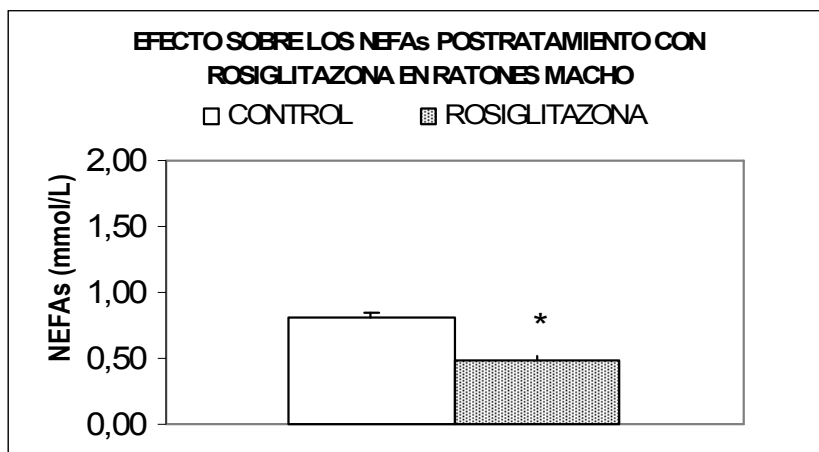
E



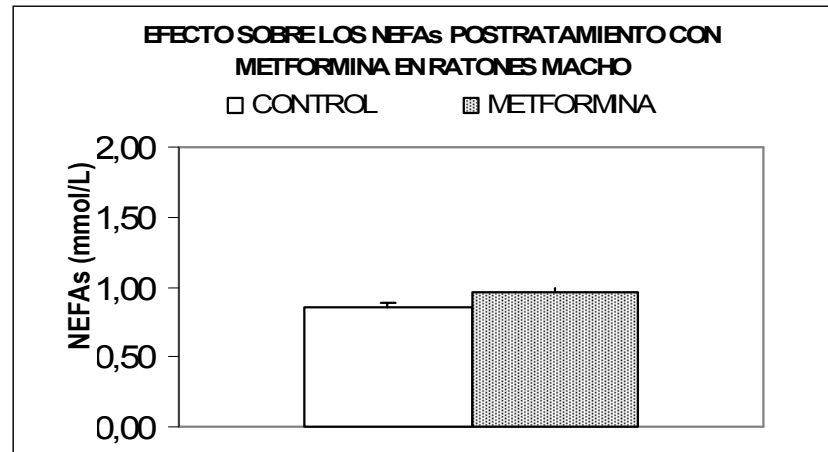
F



G



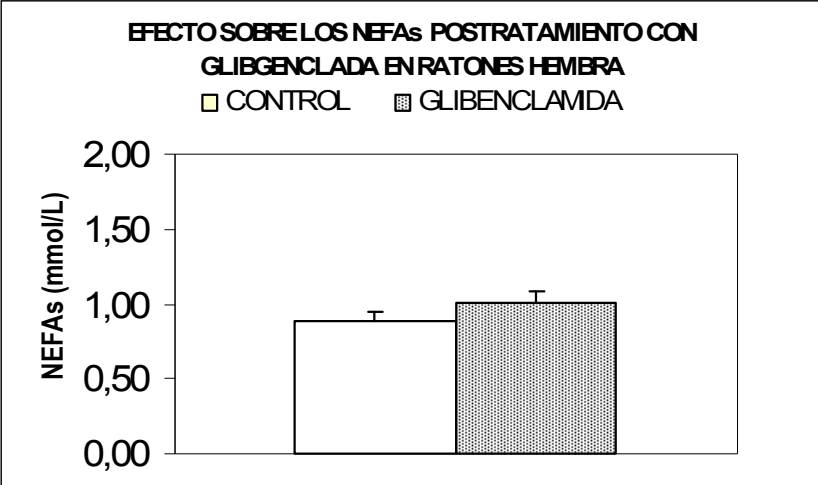
H



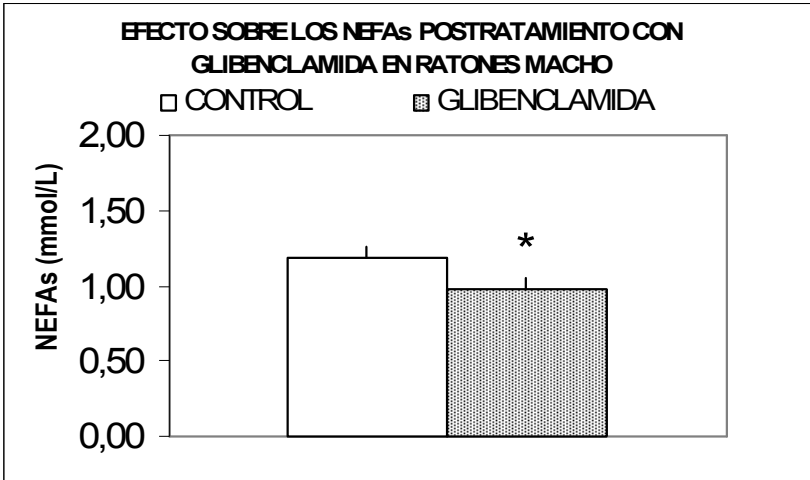
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Graficas No. 6f: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de NEFA, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos

I



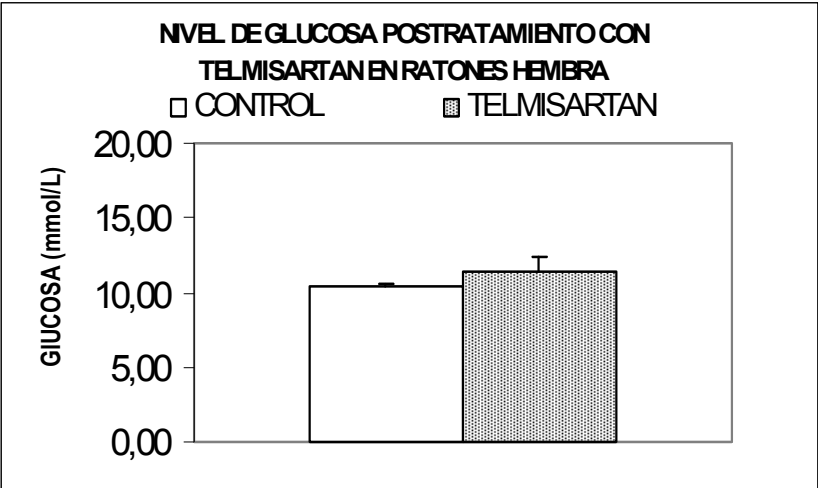
J



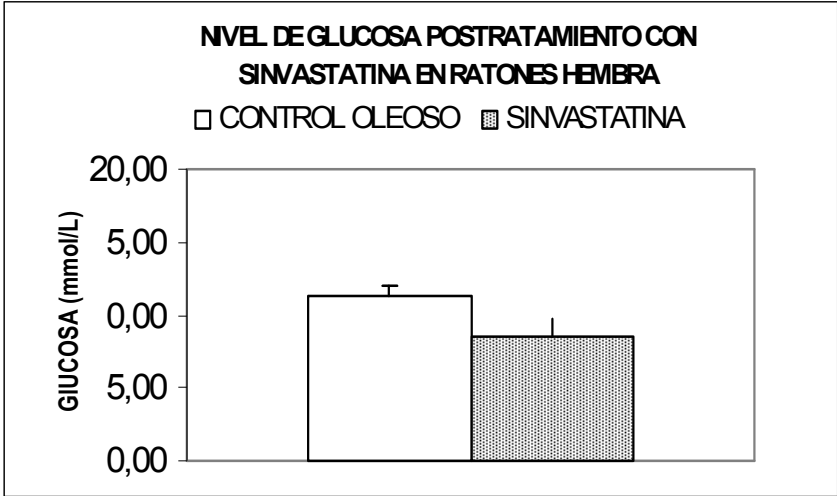
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0,05$  vs. control).

Graficas No. 6g: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de Glucosa, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos

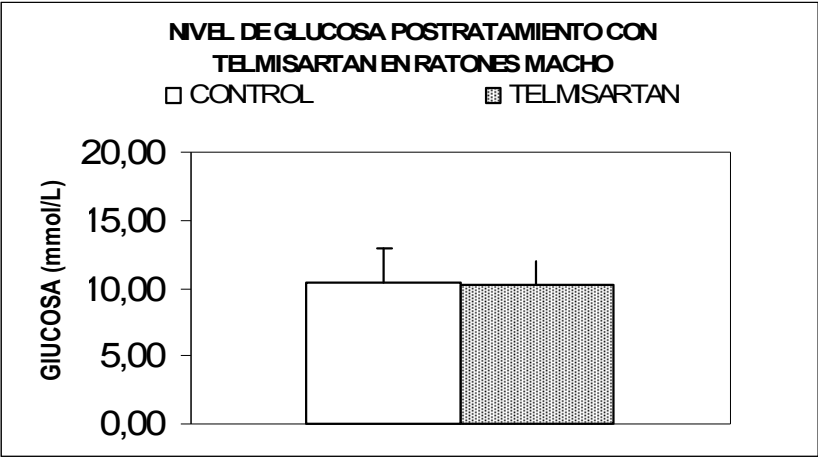
A



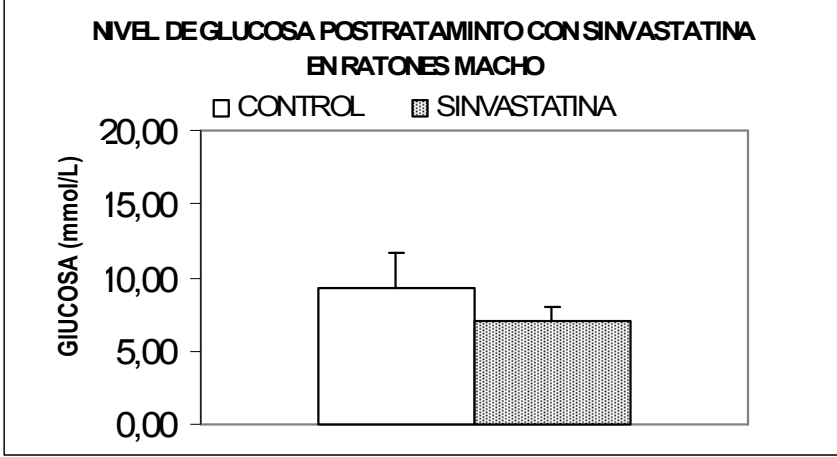
B



C



D

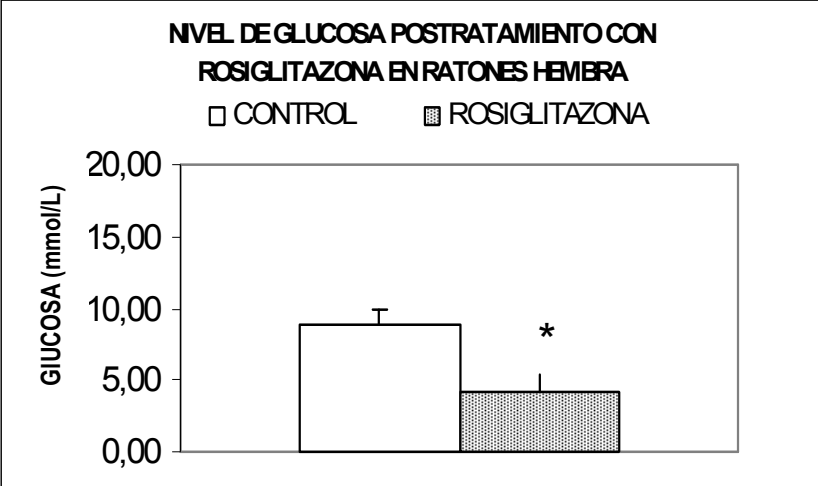


Resultados expresados como la media ± SEM (\*p < 0.05 vs. control).

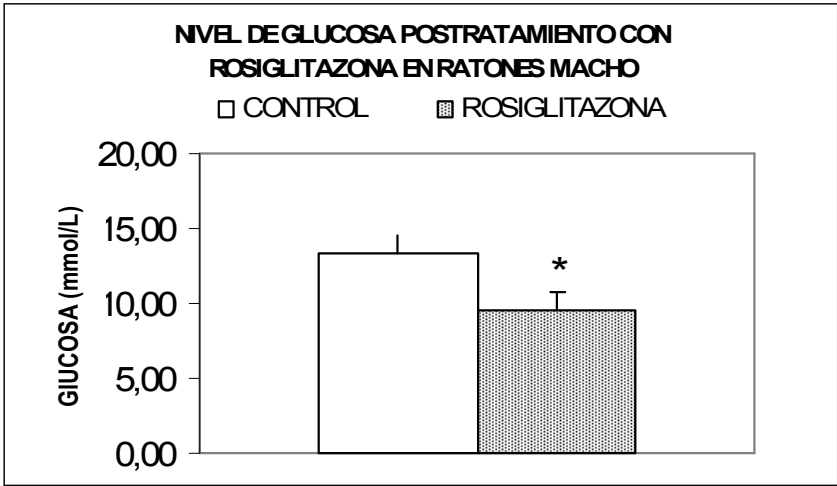


Graficas No. 6h: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de Glucosa, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos

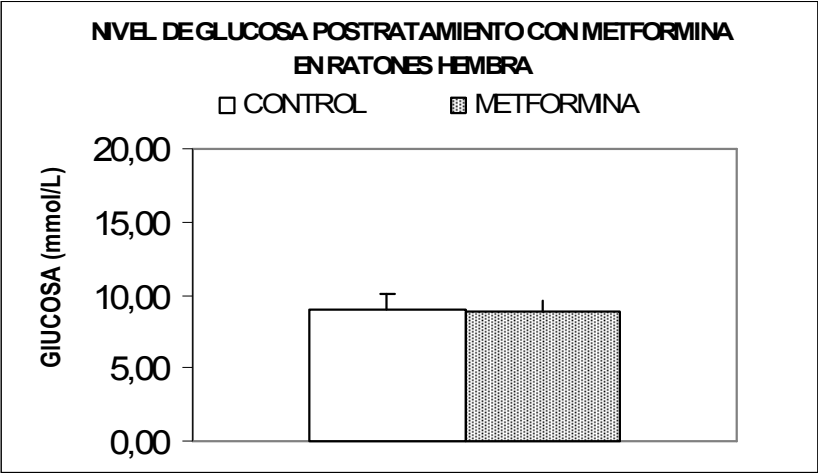
E



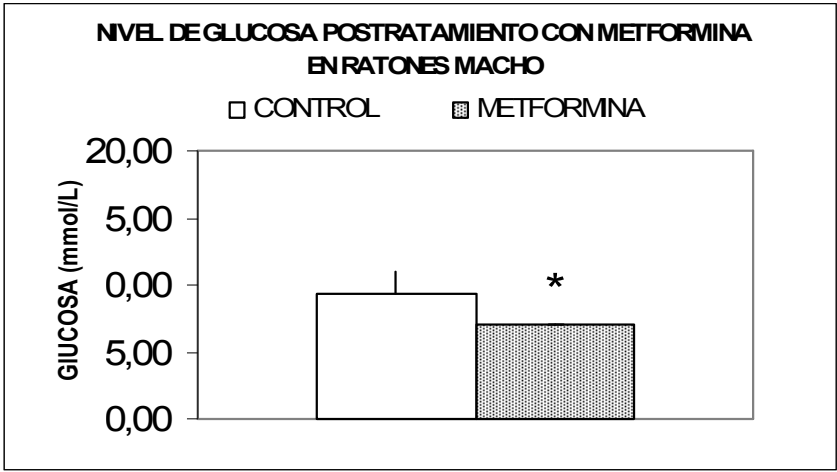
F



G



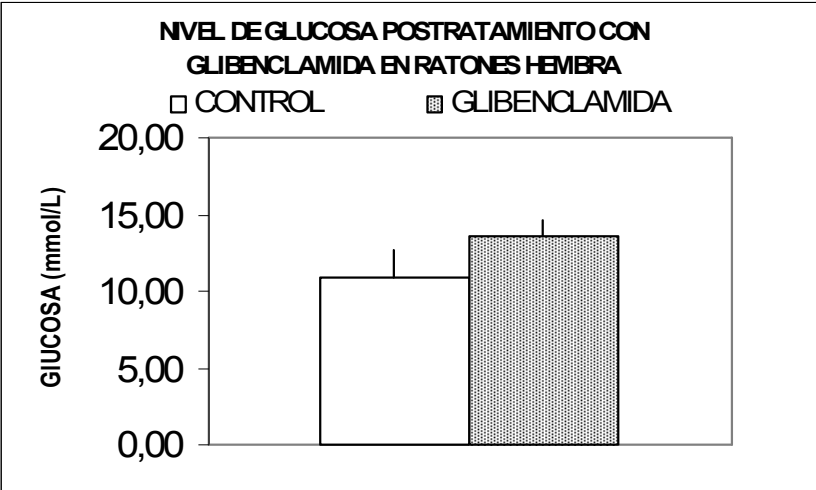
H



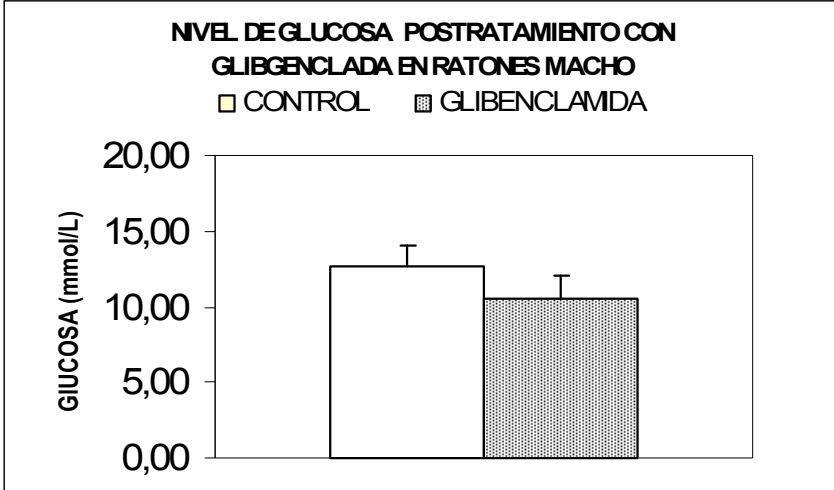
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$  vs. control).

Graficas No. 6i: Representación y comparación de los niveles plasmáticos de Glucosa, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda frase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos

I



J



Resultados expresados como la media ± SEM (\*p < 0.05 vs. control).

Resultados de los análisis de lipólisis basal y evocada con forskolina, de adipocitos obtenidos de los animales tratados con cada uno de los fármacos de la segunda fase, mediante la metodología citada:

Tablas 10a: Estadística de los resultados de lipólisis, tras el tratamiento crónico con:

TELMISARTAN

PE		BASAL		FK		UK+FK	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	0,38	0,88	1,14	2,04	1,08	1,60
N	SD	0,01	0,04	0,11	0,11	0,16	0,08
T	SE	0,01	0,03	0,08	0,08	0,11	0,06
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	0,39	1,16	0,79	2,78	0,84	2,49
A	SD	0,1	0,00	0,00	0,23	0,01	0,01
T	SE	0,07	0,00	0	0,16	0,01	0,01

SIMVASTATINA

PE		BASAL		FK		UK+FK	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	2,26	0,28	2,81	1,10	2,87	1,17
N	SD	0,16	0,00	0,05	0,02	0,06	0,03
T	SE	0,11	0,00	0,04	0,01	0,04	0,02
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	0,66	1,20	2,19	2,02	2,22	2,01
A	SD	0,05	0,02	0,01	0,05	0,01	0,02
T	SE	0,04	0,02	0,01	0,03	0,01	0,01

ROSIGLITAZONA

PE		BASAL		FK		UK+FK	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	0,66	0,68	2,33	2,01	2,28	2,14
N	SD	0,05	0,00	0,03	0,00	0,02	0,08
T	SE	0,03	0,00	0,02	0,00	0,01	0,06
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	0,77	0,95	2,03	1,70	2,25	1,63
A	SD	0,06	0,10	0,10	0,03	0,03	0,02
T	SE	0,05	0,08	0,07	0,02	0,02	0,02

METFORMINA

PE		BASAL		FK		UK+FK	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	0,49	0,40	0,87	1,25	0,83	1,40
N	SD	0,03	0,02	0,03	0,07	0,04	0,02
T	SE	0,02	0,01	0,02	0,05	0,03	0,02
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	0,75	1,40	1,16	2,04	1,25	2,01
A	SD	0,05	0,01	0,01	0,15	0,02	0,005
T	SE	0,03	0,01	0,01	0,11	0,02	0,04

PE: Parámetro estadístico SD: desviación estandar M: media SE: error estandar medio  
n: número de datos (obtenidos de un pool de adipocitos conseguidos de animales tratados animales (5))  
Glicerol liberado ( expresado en valor absoluto  $\mu\text{moles/mg lípidos/90 min}$ )  
♂ : machos UK: Brimodipina (10-6 M)  
♀ : hembras FK: Forskolinna (10-5 M)

Resultados de los análisis de lipólisis basal y evocada con forskolina, de adipocitos obtenidos de los animales tratados con cada uno de los fármacos de la segunda fase, mediante la metodología citada:

Tablas 10b: Estadística de los resultados de lipólisis, tras el tratamiento crónico con:

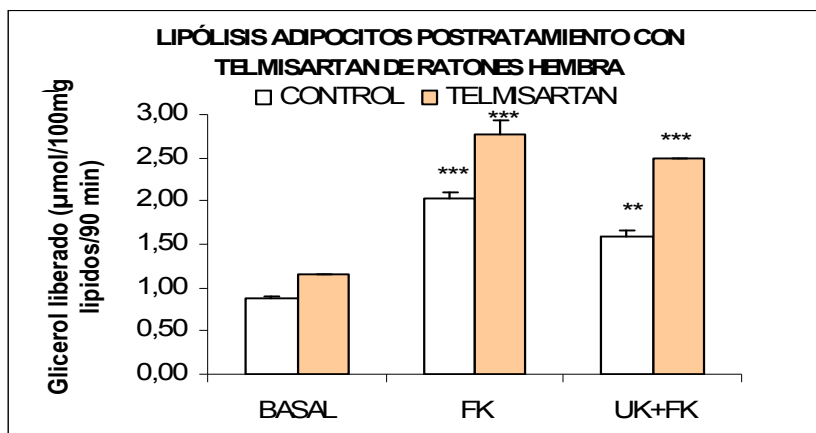
GLIBENCLAMIDA

PE		BASAL		FK		UK+FK	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
C	n	2	2	2	2	2	2
O	M	0.73	0.54	1.48	1.92	1.45	1.95
N	SD	0.02	0.02	0.08	0.00	0.02	0.01
T	SE	0.02	0.01	0.06	0.00	0.02	0.00
T	n	2	2	2	2	2	2
R	M	0.72	0.47	1.02	1.62	0.93	1.65
A	SD	0.03	0.01	0.01	0.03	0.01	0.00
T	SE	0.02	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00

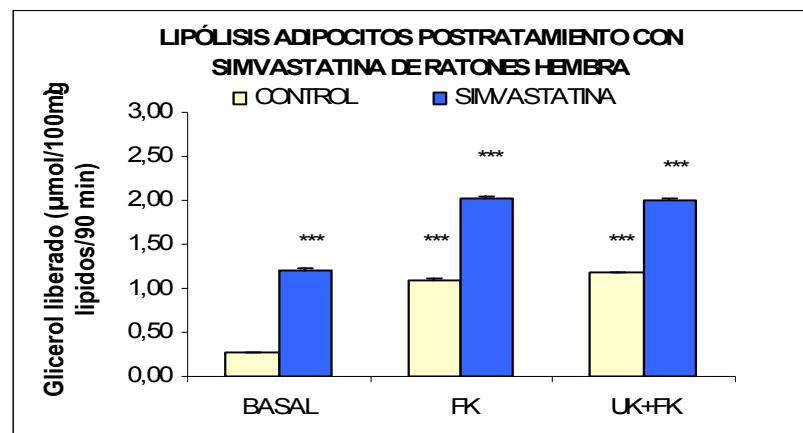
PE: Parámetro estadístico SD: desviación estandar M: media SE: error estandar medio  
n: número de datos (obtenidos de un pool de adipocitos conseguidos de animales tratados animales (5))  
Glicerol liberado ( expresado en valor absoluto  $\mu\text{moles/mg lípidos/90 min}$ )  
♂ : machos UK: Brimodipina (10-6 M)  
♀ : hembras FK: Forskolinna (10-5 M)

Graficas No. 7a: Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

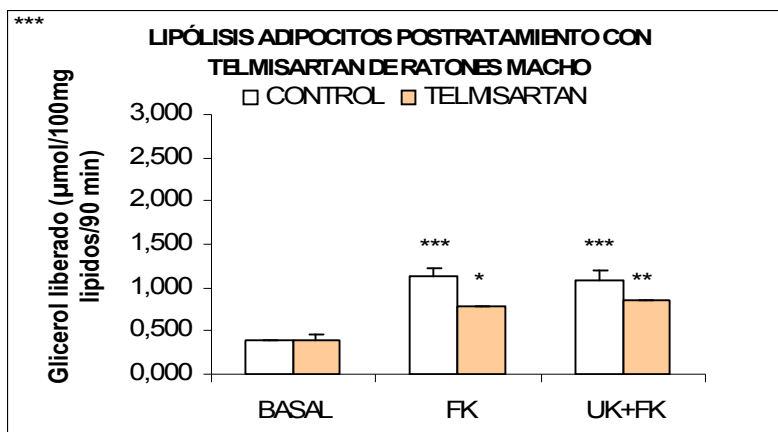
A



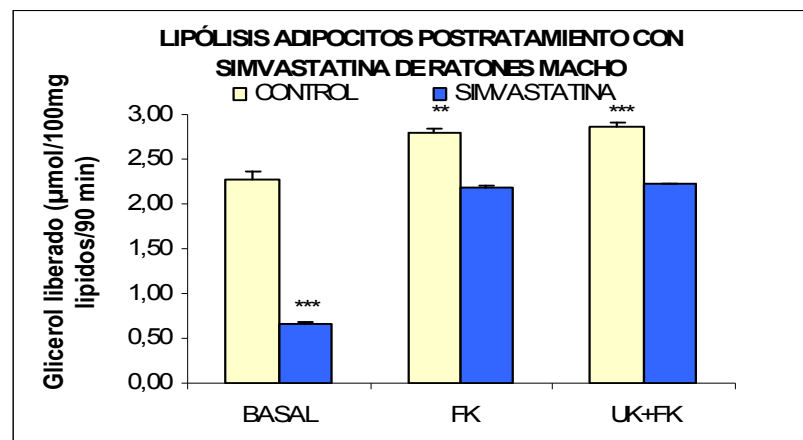
B



C



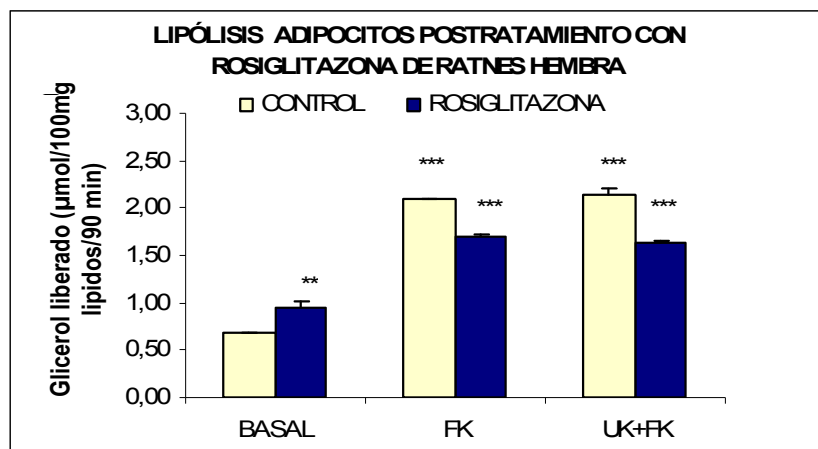
D



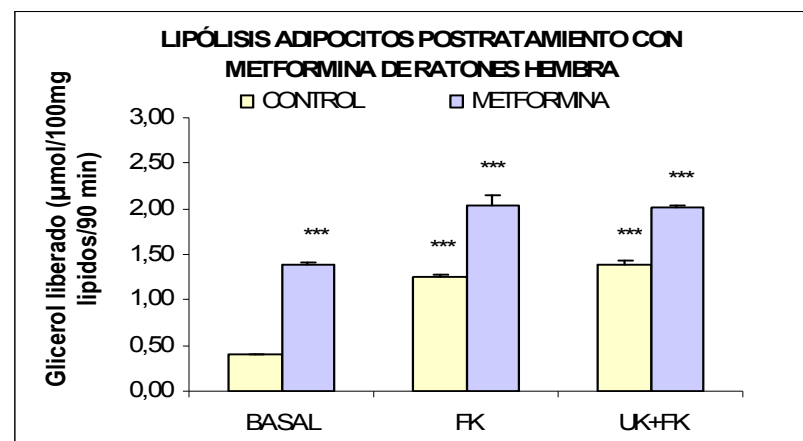
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. correspondiente control basal).

Graficas No. 7b: Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

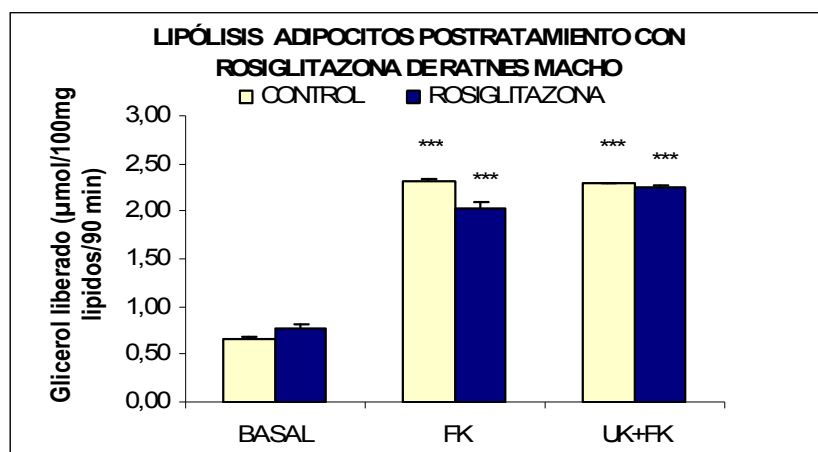
E



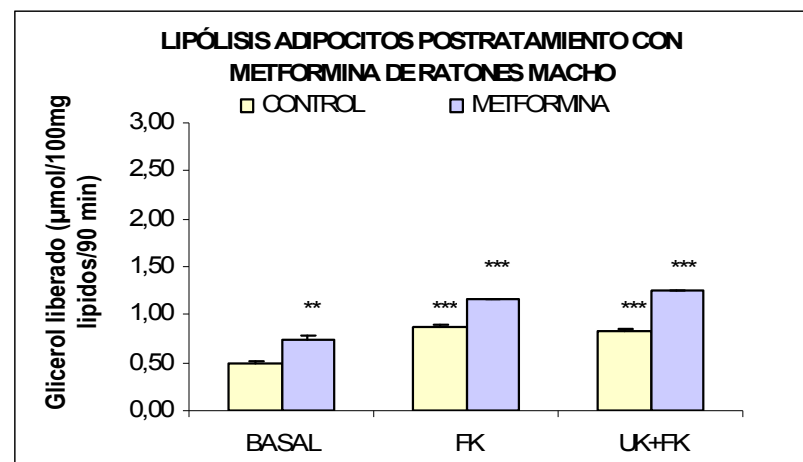
F



G



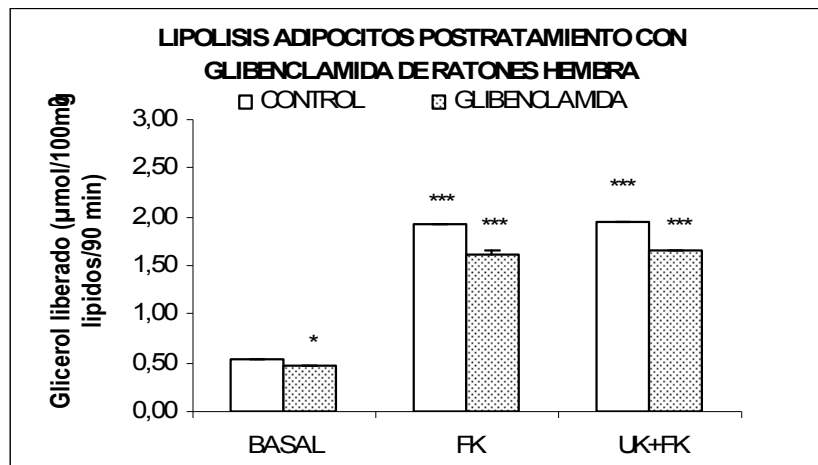
H



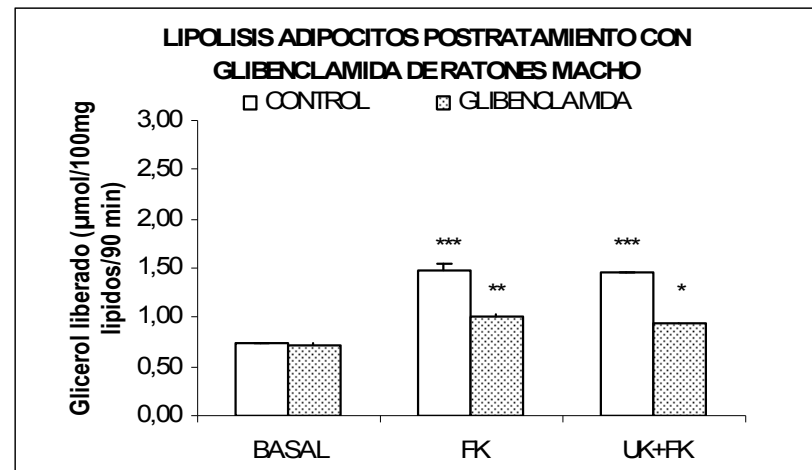
Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. correspondiente control basal).

Graficas No. 7c: Representación y comparación de las lipólisis basal y evocada con forskolina, después del tratamiento con cada uno de los respectivos fármacos de la segunda fase, de acuerdo con los objetivos planteados y siguiendo los protocolos descritos:

I



J



Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. correspondiente control basal).

Tabla 11a: Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas respectivamente por Forskolina (FK) y Brimonidina (UK), frente a las lipólisis de las muestras de ratones hembra (animales control BASAL y control de los tratados con fármacos de la segunda fase (BASALT)).

<b>ROSIGLITAZONA Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,677	2,095	209,24	2,139	2,11	0,949	1,695	78,53	1,628	-3,93	-130,70	-6,04
<b>SIMVASTATINA Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,280	1,100	292,92	1,173	6,61	1,203	2,015	67,46	2,010	-0,25	-225,46	-6,86
<b>TELMSARTAN Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,882	2,036	130,88	1,232	-39,51	1,162	2,776	139,02	2,487	-10,44	8,14	29,07
<b>GLIBENCLAMIDA Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,536	1,917	257,67	1,949	1,68	0,470	1,623	245,25	1,648	1,54	-12,42	-0,14
<b>METFORMINA Hembras</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,401	1,250	211,59	1,395	11,63	1,397	2,044	46,35	2,012	-1,55	-165,25	-13,18

FK: Forskolina (10-5 M)

BASAL: Lipólisis en muestras de animales control sin tratamiento

UK: Brimodipina (10-6 M)

BASALT: Lipólisis en muestras de animales control de los tratados con fármacos antianginosos

%↑FK: Porcentaje de incremento de la lipólisis inducida por FK

%↓UK: Porcentaje de reducción causada por UK sobre la lipólisis inducida por FK

DIF.%↑FK: Diferencia entre la lipólisis inducida por FK en los animales tratados y los no tratados

DIF.%↓UK: Diferencia entre la reducción producida por UK en los animales tratados y los no tratados

La T significa muestras provenientes de animales tratados con el respectivo fármaco



Tabla 11b: Relación porcentual de estimulación e inhibición de la lipólisis, inducidas respectivamente por Forskolina (FK) y Brimonidina (UK), frente a las lipólisis de las muestras de ratones macho (animales control BASAL y control de los tratados con fármacos de la segunda fase (BASALT)).

<b>ROSIGLITAZONA Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,659	2,327	252,82	2,283	-1,86	0,769	2,033	164,34	2,248	10,55	-88,48	12,41
<b>SIMVASTATINA Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
2,262	2,805	24,02	2,870	2,33	0,655	2,186	233,73	2,219	1,48	209,71	-0,85
<b>TELMISARTAN Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,381	1,138	198,77	1,081	-5,00	0,393	0,791	101,13	0,844	6,74	-97,64	11,75
<b>GLIBENCLAMIDA Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,729	1,479	102,91	1,446	-2,22	0,718	1,018	41,72	0,930	-8,64	-61,19	-6,42
<b>METFORMINA Machos</b>											
BASAL	FK	%↑	UK+FK	%↓UK	BASALT	FKT	%↑	UKT+FKT	%↓UK	DIF.%↑FK	DIF.%↓UK
0,492	0,869	76,41	0,828	-4,65	0,745	1,164	56,29	1,247	7,16	-20,12	11,81

FK: Forskolina (10-5 M)

BASAL: Lipólisis en muestras de animales control sin tratamiento

UK: Brimodipina (10-6 M)

BASALT: Lipólisis en muestras de animales control de los tratados con fármacos antianginosos

%↑FK: Porcentaje de incremento de la lipólisis inducida por FK

%↓UK: Porcentaje de reducción causada por UK sobre la lipólisis inducida por FK

DIF.%↑FK: Diferencia entre la lipólisis inducida por FK en los animales tratados y los no tratados

DIF.%↓UK: Diferencia entre la reducción producida por UK en los animales tratados y los no tratados

La T significa muestras provenientes de animales tratados con el respectivo fármaco

Tabla 12a. Valores de parametros determinados en ratones macho (controles vs. Tratados) 2ª fase

FARMACO*	ADIPONECTI		GLUCOSA		NEFAs		LIPOLISIS							
	C	P	C	P	C	P	CB	FK	%↑	CBT	%CC	FKT	%↑	%
Glibenclamid	5,79	4,85	12,73	10,47	1,19	0,98	0,73	1,48	102,88	0,72	-1,23	1,02	41,39	-31,17
Metformida	4,16	3,43	9,19	7,00	0,88	0,94	0,49	0,87	76,45	0,75	52,28	1,16	55,13	33,89
Rosiglitazona	4,17	3,38	13,32	8,70	0,82	0,49	0,66	2,33	252,77	0,77	16,76	2,03	163,96	-12,64
Simvastatina	1,84	1,89	9,21	7,05	0,25	0,33	2,26	2,81	24,03	0,66	-70,82	2,19	231,29	-22,05
Telmisartan	3,15	2,90	10,38	10,19	0,73	0,64	0,38	1,14	198,82	1,58	314,70	0,79	-49,94	-30,52
<b>Media</b>	3,82		10,97		0,77		0,90	1,72	130,99					
Error estand.	0,65		0,87		0,15		0,34	0,37	41,61					

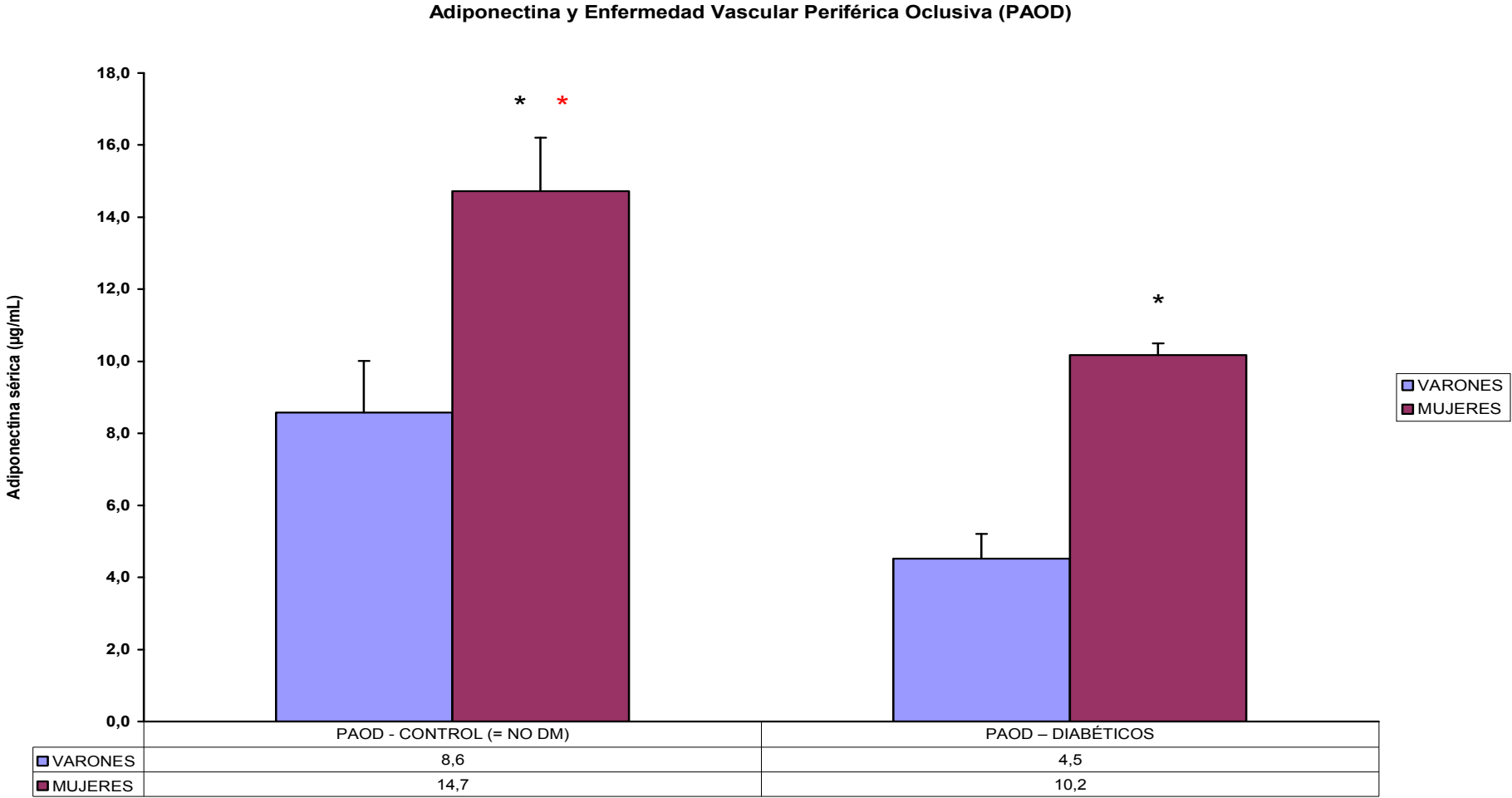
Tabla 12b. Valores de parametros determinados en ratones hembra (controles vs. Tratados) 2ª fase

FARMACO*	ADIPONECTI		GLUCOSA		NEFAs		LIPOLISIS							
	C	P	C	P	C	P	CB	FK	%↑	CBT	%CC	FKT	%↑	%
Glibenclamid	6,59	8,45	12,21	13,51	0,93	0,97	0,54	1,92	257,98	0,47	-12,23	1,62	245,32	-15,34
Metformida	6,79	5,32	9,92	8,30	1,19	0,85	0,40	1,25	211,60	1,40	249,13	2,04	45,96	63,55
Rosiglitazon	4,88	6,08	9,67	4,16	0,55	0,60	0,68	2,10	209,23	0,95	40,22	1,69	78,37	-19,12
Simvastatina	5,83	4,04	11,34	8,50	0,56	0,48	0,28	1,10	293,04	1,20	328,57	2,02	67,96	83,14
Telmisartan	7,31	7,76	10,42	11,45	0,75	0,63	0,88	2,04	130,84	1,16	31,52	2,78	139,31	36,35
<b>Media</b>	6,28		10,71		0,80		0,56	1,68	220,54					
Error estand.	0,42		0,47		0,12		0,11	0,21	27,31					

C: Animales control  
P: Animales tratados

%↑ : Porcentaje de aumento de la lipólisis basal evocada por FK  
% : Porcentaje de reducción o aumento de la lipólisis evocada, producto del tratamiento (\*)  
% de aumento o reducción de la lipólisis FKT vs. FK por el (\*)

Gráfica 8. Nivel sérico de adiponectina en pacientes control y diabéticos con enfermedad vascular periférica oclusiva.



Resultados expresados como la media  $\pm$  SEM (\*  $p < 0.05$  entre hombres y mujeres, \*  $p < 0.05$  entre diabéticos y no diabéticos del mismo género).

**GRUPO PACIENTES CIRUGÍA VASCULAR**

**PAOD = Enfermedad Vascular Periférica Oclusiva**

**VARONES**

**PAOD - CONTROL - NO DM**

Ref.	NHC	PACIE	Adipo	EDAD	Farmacoterapia	Diagnos	Glic.	CT	HDL	LDL	TG
H31A	4185204	MGP	4,0	77	HC Sin prescripción	Claud EE.II	ND	ND	ND	ND	ND
H32A	4143491	MOD	4,1	55	HC Sin prescripción	Ateromatosis	ND	224	42	142	201
H33A	4031530	GGF	9,4	55	Omeprazol, Gropelés?	Ateromatosis	106	N	N	N	N
H43A	2253161	CGF	5,4	77	HC Sin prescripción	ND	104	196	58	115	114
H28B	156817	ECM	5,0	74	ASA, Simvast, Atenolol, Amlol, Nitrogli, Nifedipin	Ateromatosis	90	180	54	105	103
H36B	100624	MMI	6,0	ND	Atenolol, Amlodipino, ASA, Nitroglicerina	Cardio Isque	114	259	48	183	142
H40B	4164452	SGC	11,1	62	Acenocumarol, Pentoxifilina, Triflunisal, estatina	Isq. bilateral	95	235	21	177	
H41B	4074023	JBE	11,0	84	Clopidogrel, Pentoxifilina, Atenolol, Lisinopril	Isq., Ateros.	ND	ND	ND	ND	ND
H49B	172025	BPJ	9,1	70	ASA, Pentoxifilina, Valsartan	Isq. Arterial	###	N	N	N	N
H44B	4185509	HPAS	5,9	57	ASA, Simvast, Atenolol, Pentoxifilina	Isq. e HTA	ND	ND	ND	ND	ND
H57B	4093639	JGL	16,5	79	Pentoxifilina, Acenocumarol, AntiHTA	Insuficiencia	ND	ND	ND	ND	ND
H46C	4167816	APE	5,1	50	Clopidogrel, Pentoxifilina	Isquemia Arte	ND	ND	ND	ND	ND
H48C	226491	GMF	4,1	71	Clopidogrel, Clebopride	HTA	111	221	54	149	91
H55C	1095140	PAL	11,3	61	Triflunisal, Pentoxifilina	Isquemia EI	ND	ND	ND	ND	ND
H56C	4172617	RBA	7,6	83	Pentoxifilina	Isquemia Cr	N	N	N	N	N
H61C	4013954	PSJ	15,3	69	Clopidogrel	Claudicación	105	214	61	136	86
H58	4114882	CRS	15,0	87	Sin revisión HC, ND	Isquemia arteria MI Izq.					

**MEDIA** 8,6

**SE** 1,0

**PAOD - DIABÉTICOS**

Ref.	NHC	PACIE	Adipo	EDAD	Farmacoterapia	Diagnos	Glic	CT	HDL	LDL	TG
H52A	4085997	LMP	6,6	55	HC Sin prescripción actual	Obstruc Aor	ND	ND	ND	ND	ND
H42B	4027732	CSR	5,7	59	Enalapril, Simvastatina, Triflunisal, Pentoxifilina	DM, HTA, Hc	153	168	ND	ND	ND
H51B	108447	IRJ	6,1	65	Clopidogrel, Enalapril, Flecaínida	Arteriopatía,	82	189	56	117	78
H63B	4081353	TFA	6,5	63	Atorvastatina, Telmisartan, amilorida	Bypass aort	>140	ND	ND	ND	ND
H64B	4166735	BMF	2,5	74	ASA, Clopidogrel, Pentox., Metoprolol, Simvastatina	Cardiopatía	137	234	34	168	152
H47C	4176046	PTM	3,9	69	ASA, Pentoxifilina, Clopidogrel	Claudica, Isq	ND	ND	ND	ND	ND
H37D	270872	AAJJ	3,4	57	Insulina Humana, Glibenclamida	DM	121,2	224	ND	ND	746
H54E	4153751	RFM	2,1	71	Ins. Glargina, Pravastat., ASA, Metfor., Acarbosa	Estenosis ac	200	ND	ND	ND	ND
H53	269081	RSV	3,8	ND	HC ND						

**MEDIA** 4,5

**SE** 0,6

**MUJER**

**PAOD - CONTROL (= NO DM)**

Ref.	NHC	PACIE	Adipo	EDAD	Farmacoterapia	Diagnos	Glic	CT	HDL	LDL	TG
H38B	56142	PSM	17,7	64	ASA, Atenolol, Simvasta., Henoxaparina	HTA	108	236	83	141	60
H65B	4121949	PRM	13,0	78	AntiHTA y AntiInflamatorio	HTA, HCT	ND	ND	ND	ND	ND
H66C	4187467	BPC	13,5	65	Clopidogrel	Claudicación	103	315	N	N	N

**MEDIA** 14,7

**SE** 1,5

**PAOD - CONTROL - DIABÉTICOS**

Ref.	NHC	PACIE	Adipo	EDAD	Farmacoterapia	Diagnos	Glic	CT	HDL	LDL	TG
H30G	272686	RSN	10,5	30	Insulina Glargina (0-0-30 UI)	DM1	94	172	78	83	54
H39H	77719	SSF	9,9	79	Ins. Glargina y Lispro, Clopidogrel, ASA, Pentoxif.	DMID, atero	224	ND	ND	ND	ND

**MEDIA** 10,2

**SE** 0,3

Siglas: ND: dato no disponible, N: dato normal aunque no citado

HTA: hipertensión arterial, Claud EE II: claudicación ambas extremidades inferiores

Claud MS Izq.: claudicación miembro superior izq., Hcolesterol: Hipercolesterolemia

EI Der: Extremidad Inferior Derecha, Isq.: Isquemia

LDL: Lipoproteínas de baja densidad, TG: Triglicéridos, HbA1c: hemoglobina glucosilada

AdipoQ: Adiponectina

Glic: Glicemia

CT: Colesterol total

HDL: Lipoproteínas de

alta densidad

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se sabe que la adiponectina, proteína producida por los adipocitos mejora la sensibilidad a la insulina y tiene propiedades antiateratogénicas en el hombre.

Los niveles circulantes de esta adipocitocina, se correlacionan positivamente con la sensibilidad a la insulina, presentándose niveles reducidos de adiponectina en obesos y en diabéticos tipo 2, de tal forma que la hipoadiponectinemia es un factor de riesgo para la diabetes, considerándose como marcador de la resistencia a la insulina.<sup>257</sup>

La evaluación de los niveles de adiponectina, sirve como marcador de inflamación y de la disfunción endotelial, de acuerdo con Iwashima Y. y col. en 2006<sup>258</sup>, quienes en la *enfermedad arterial periférica oclusiva* (PAOD), determinaron que puede servir como marcador de la existencia y evolución de la aterosclerosis.

La amplia investigación del AMPK, ha permitido establecer su función como regulador clave del metabolismo energético de ácidos grasos y glucosa, para satisfacer la alta demanda energética cardiovascular. En el caso de isquemia cardíaca o hipoxia, es un determinante energético y su activación produce un aumento en la captación de glucosa y la oxidación de ácidos grasos, actividad identificada ya para algunos de los fármacos de prueba, con actividad agonista total o parcial de PPAR $\gamma$ , como IECA, ARB, TZD y SU, que podrían aumentar la expresión de adiponectina y la activación del AMPK, como lo muestra el mecanismo de acción descrito por Lafontane para esta citocina.<sup>259</sup> De tal forma que, la administración de adiponectina reduce la glicemia sin modificar la secreción de insulina, tanto en el ratón normal como en modelos diabéticos, suprime la gluconeogénesis y facilita la captación de glucosa por músculo y tejido adiposo, estimula la oxidación de ácidos grasos en el músculo e hígado, reduciendo los niveles de triglicéridos y ácidos grasos libres.

Ding G. y col. en 2007, demostraron la expresión de adiponectina y sus receptores, por activación PPAR $\gamma$ . El dominio globular de la adiponectina, es la forma más potente, que activa la AMPK, incrementa la oxidación de FA y la captación de glucosa en músculo esquelético e hígado.<sup>260</sup>

Teniendo en cuenta que en nuestras condiciones y modelo experimental, el ratón hembra tiene unos valores de adiponectina circulante, claramente superiores a los de los machos (aproximadamente el doble:  $7,78 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$  vs.  $4,65 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente), según los datos encontrados en los animales control de la primera fase y confirmados con los de la segunda, en la cual se presentó similar situación ( $6,28 \pm 0,42 \mu\text{g/mL}$  en hembras vs.  $3,82 \pm 0,65 \mu\text{g/mL}$  en machos), hemos tratado de encontrar una correlación entre los valores de la adiponectina, y otros parámetros relacionados con la homeostasis glicémica, como son los propios niveles circulantes de glucosa, insulina y ácidos grasos libres, en ambos sexos.

A pesar de la diferencia que se establece entre ambos sexos en los niveles de adiponectina, las glicemias basales en ambos grupos control fueron muy similares:  $10,71 \pm 2,15 \text{ mmol/L}$  para las hembras y  $7,95 \pm 0,68 \text{ mmol/L}$  para los machos, en el desarrollo de la investigación con los fármacos de la primera fase. Esta misma situación fue confirmada en la evaluación del tratamiento con los fármacos de la segunda fase ( $10,71 \pm 0,47 \text{ mmol/L}$  en hembras vs.  $10,97 \pm 0,87$  en machos), tras la comparación de la media general obtenida a partir de todas las medias

---

<sup>257</sup> Goldstein B.J., Scalia R. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.

<sup>258</sup> Iwashima Y. y col. *Atherosclerosis.* 2006; v.188, p.384-90.

<sup>259</sup> Dyck J.R.B., LopaschuK G.D. *J. Physiol.* 2006; v.574, n.1, p.95-112.

<sup>260</sup> Ding G. y col. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2007; v.43, p.73-84.

de los controles. Curiosamente los niveles circulantes de ácidos grasos libres fueron más elevados en la hembra que en el macho ( $1,17 \pm 0,35$  vs.  $0,58 \pm 0,05$  mmol/L), en las determinaciones hechas en la primera fase. En la segunda fase no hubo diferencia significativa ( $0,80 \pm 0,12$  mmol/L en hembras vs.  $0,77 \pm 0,15$  mmol/L en machos). Sin embargo, una clara correlación inversa se encontró cuando se relacionaron los niveles de adiponectina con la lipólisis basal *in vitro*: más reducida en la hembra que en el macho ( $0,55 \pm 0,11$  vs.  $1,65 \pm 0,30$   $\mu$ mol de glicerol/100 mg de lípidos/90 min respectivamente), en la primera fase y de igual comportamiento en la segunda, entre hembras y machos ( $0,56 \pm 0,11$  vs.  $0,90 \pm 0,34$   $\mu$ mol de glicerol/100 mg de lípidos/90 min respectivamente).

La respuesta lipolítica inducida por forskolina, presentó una tendencia a ser de mayor intensidad en la hembra que en el macho (expresada la respuesta en porcentaje sobre sus basales respectivas, tanto en la primera como en la segunda fase: 180% vs. 102% y 300% vs. 189%), hecho que puede interpretarse de acuerdo a los valores de la lipólisis basal, más reducida en la hembra, por tanto la lipólisis en hembra, puede tener un intervalo más amplio para intensificarse por efecto de la forskolina, que en los machos.

Ya se ha dejado expuesto, que se acepta a la adiponectina como un marcador en la enfermedad cardiovascular, de modo que unos niveles reducidos de la misma, serian un factor predictor del riesgo. De esta forma, cobra gran importancia la evaluación de la actividad, de los fármacos antianginosos trabajados en nuestra primera fase de estudio, sobre los niveles de adiponectina plasmática, los cuales están reducidos en pacientes con enfermedades cardiovasculares (*enfermedad vascular periférica oclusiva, isquemia coronaria e hipertensión*, entre otras), situación que se asocia estrechamente además, con patologías relacionadas con resistencia a la insulina y dislipidemia.

El efecto benéfico de la adiponectina es el resultado de diferentes acciones: antiinflamatoria, antiproliferativa y antiapoptótica. Por lo tanto se establece una correlación clara entre adiponectina y *disfunción endotelial* o la *enfermedad coronaria*, de tal forma que la adiponectina puede ser considerada “marcador independiente del desarrollo, tanto de la resistencia a la insulina como de la disfunción endotelial”.<sup>261,262</sup>

Por otra parte, la *enfermedad arterial periférica oclusiva* (PAOD), ocurre usualmente en individuos mayores de 40 años, especialmente coexistente con HTA, DM, hiperlipidemia y tabaquismo, acompañada de claudicación intermitente, dolor de las extremidades inferiores e incidencia de otras lesiones ateroscleróticas y cardiovasculares.<sup>263</sup> Situaciones que requieren del establecimiento y estandarización de farmacoterapias, de acuerdo con la coexistencia respectiva. De ahí que se haya considerado estudiar, la influencia de fármacos prototipo en el tratamiento de estas patologías, sobre los niveles de adiponectina de individuos con patología vascular periférica y diabetes mellitus tipo 2, en quienes se presentó gran parte de los síntomas descritos anteriormente, para analizar la posible repercusión que ejercen sobre los parámetros ya descritos, intentando encontrar una correlación entre cada uno de ellos con la adiponectina y de ser posible establecer la equivalencia, con las observaciones y conclusiones obtenidas de la evaluación experimental de los grupos farmacológicos en evaluación.

#### Fármacos evaluados en la primera fase

En el animal hembra, solo el tratamiento con el  $\beta$ -bloqueador, metoprolol, en dosis de 30 mg/kg\*día, redujo de forma significativa los niveles de adiponectina (de 8 a 6  $\mu$ g/mL). El

<sup>261</sup> Matsuzawa Y. *Atherosclerosis*. 2005; suppl.6, p.7-14.

<sup>262</sup> Tan K.C.B. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, p..765-9.

<sup>263</sup> Iwashima Y. y col. *Atherosclerosis*. 2006; v.188, p.384-90.

enalapril indujo un discreto incremento (de 7,8 a 9,1  $\mu\text{g/mL}$ ) cercano al límite de significancia. Los restantes fármacos (salicilato, furosemida, amlodipino y 5-mononitrato de isosorbide), no modificaron los niveles basales.

En el ratón macho, la furosemida y el nitrato redujeron de forma significativa los niveles de esta citocina (de 4,2 a 2,4  $\mu\text{g/mL}$  y de 4,7 a 2,2  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente). La inhibición ejercida por el amlodipino (4,7 a 3,2  $\mu\text{g/mL}$ ) cayó en los límites de la significación. Siendo así, ningún fármaco en estudio facilitó un incremento significativo en los niveles de la citocina en cualquiera de los sexos.

La furosemida administrada en dosis de 10 mg/kg\*día, no pareció ejercer en la hembra ninguna modificación en los parámetros de estudio (tanto *in vivo* como *in vitro*), ni modificar la respuesta insulinoscretora a la glucosa en islotes aislados, situación esta última que podría llegar a presentarse, de acuerdo con lo citado por Sandstrom y Sehlin, al referirse a la intolerancia a la glucosa por deterioro en la liberación de insulina, posiblemente generadas por este fármaco en ratones ob/ob con dosis de 200 mg/kg. Aunque posteriormente se planteó, que el daño natural en la secreción de insulina de este tipo de animales, puede ser el responsable de la intolerancia a la glucosa vista en islotes.<sup>264,265</sup>

Curiosamente en el macho, solo introdujo un cambio significativo de reducción en los niveles de adiponectina e incrementó la lipólisis evocada, tal vez inducida por mayor liberación de catecolaminas producto de la diuresis estimulada. Sin embargo, no hubo claras consecuencias en los niveles circulantes de ácidos grasos libres y glicemia.

Siendo así, con base en nuestros hallazgos y lo ya citado por otros investigadores, podríamos plantear que tal vez el tratamiento con furosemida a altas dosis, pueda generar la intolerancia a la glucosa, concomitantemente o posterior a la reducción de los niveles de adiponectina.

Tanto en los animales hembra como en machos, el salicilato no indujo modificaciones en los niveles de la citocina, ácidos grasos libres y glicemia. Sin embargo, generó una significativa reducción de la lipólisis evocada por la forskolina. Igualmente, parece que el salicilato tiende a reforzar el efecto inhibitorio de la brimonidina, situaciones que se justifican por cuanto Hardman J.G. y col., ya han comentado el efecto reductor de la lipólisis evocada, producido por el tratamiento con altas dosis de aspirina.<sup>266</sup>

El metoprolol redujo en las hembras como hemos expuesto, los niveles de la citocina, e igualmente redujo de forma clara el nivel de los ácidos grasos libres (de 1,20 a 0,74 mmol/L) y de la glicemia (de 15,8 a 6,2 mmol/L), aunque sin modificar la insulinemia basal. Deprimió además, la respuesta lipolítica a la forskolina.

Este  $\beta$ -bloqueador, que no alteró en machos los niveles de la citosina, tampoco modifica los niveles de ácidos grasos libres ni de la glicemia. Pero si pudo verse, que también en ellos deprimió la respuesta lipolítica a forskolina.

Todo lo anterior concuerda y se justifica, con lo hallado por Celik T. y col., quienes en pacientes hipertensos tratados con metoprolol, determinaron reducción no significativa del nivel de adiponectina, igualmente se reconoce, que puede inhibir la activación de la HSL en células grasas, reduciendo así el nivel de FFA. Controversialmente, pero justificando la diferencia hallada en nuestro estudio, en el nivel de adiponectina entre hembras y machos causado por el metoprolol, recordamos ahora, que Celik también encontró un aumento de esta citosina por el uso de nebivolol, otro antihipertensivo antagonista  $\beta$ -adrenérgico, pero además, Fasshauer M. y col., han planteado que los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos inhiben el gen de

---

<sup>264</sup> Sandstrom PE., Sehlin J. *Eur. J. Pharmacol.* 1988; v.147, p.403-9.

<sup>265</sup> Jacobs D.B. y col. *J. Clin. Invest.* 1984; v.74, p.1679-85.

<sup>266</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

expresión y la secreción de esta citosina, de tal forma que ante nuestros hallazgos y los de estos dos autores, podemos pensar que existe algún factor adicional, que media el efecto tanto de agonistas como de antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos, sobre la expresión y secreción de la adiponectina, ya que nuestros resultados por ahora no nos permiten asegurar otra cosa.<sup>267,268,269,270</sup>

El calcio-antagonista amlodipino, no modificó en las hembras los niveles de adiponectina, reduciendo significativamente los ácidos grasos libres y la glicemia, sin alterar la insulinemia. Se observó además, reducción de la respuesta lipolítica evocada por forskolina, situación que se contrapone al posible efecto inhibitorio de la fosfodiesterasa, que ha sido atribuido a otros calcio antagonistas (verapamilo, diltiazem), marcando esto una posible diferencia favorable con ellos.

En los animales macho, el amlodipino tampoco modificó los niveles de la citosina, ni de los ácidos grasos libres circulantes, pero sí elevó moderadamente la glicemia. Potenció discretamente pero sin alcanzar la suficiente significancia, tanto la respuesta lipolítica evocada como la inhibida en presencia del agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico (brimonidina), que de haber existido diferencia significativa, habría sido contradictorio. Esto refleja lo ya descrito por Schramm T. y col., en cuanto al reconocimiento de que el amlodipino no interfiere con el metabolismo energético significativamente.<sup>271</sup>

El incremento de la adiponectina causado por el fármaco IECA, enalapril, en las hembras fue cercano al límite de significancia (7.82 a 9.08  $\mu\text{g/mL}$ ), y fue acompañado de un claro y significativo descenso del nivel de ácidos grasos libres (0.83 a 0.20 mmol/L), situación ésta última, que refleja el conocido efecto de los IECA sobre el RAS, impidiendo la acumulación de TG suscitada por la Ang II en los adipositos, sin producir cambios ni en la glicemia ni en la insulinemia. Sin embargo, el enalapril no frenó la respuesta lipolítica de la forskolina, pero sí atenuó el efecto inhibitorio de la brimonidina. El análogo captopril, tampoco modificó en islotes aislados la respuesta insulinosecretora a la glucosa.

En machos el enalapril no modificó los niveles de adiponectina, de ácidos grasos, ni de la glicemia. No se encontraron modificaciones en la respuesta lipolítica o estimulada con forskolina, ni inhibida con brimonidina.

Los efectos observados sobre el nivel de adiponectina y glicemia, y su falta de significancia, pueden deberse a la baja dosis de enalapril utilizada en la prueba (1 mg/kg\*día), a pesar de esto, se vio gran influencia sobre el nivel de NEFA, seguro mediado por su efecto inhibitorio adrenérgico y de la Ang II, a lo cual se le atribuye el mejor control glicémico, de lípidos séricos y mejor utilización de glucosa.<sup>272,273</sup>

Finalmente el 5-mononitrato de isosorbide no produjo en las hembras ninguna alteración en los parámetros analizados in vivo, ni en la respuesta insulinosecretora a la glucosa. Potenció moderadamente la lipólisis evocada, al igual que lo hizo en los machos. Es de resaltar, que también en los machos, este nitro derivado redujo los niveles de la adiponectina, sin alterar los demás parámetros. Para justificar este comportamiento, no contamos con argumentos ni sustento bibliográfico en el que se halla descrito este tipo de efectos, pues el mecanismo de

---

<sup>267</sup> Day J.L. y col. *British Medical Journal*. 1982; v.284, p.1145-48.

<sup>268</sup> Rohifing J.J., Brunzell J.D. *West. J. Med.* 1986; v.145, p.210-8.

<sup>269</sup> Celik T. y col. *J. Hipertensión*. 2006; v.24, p.591-6.

<sup>270</sup> Fasshauer M. y col. *Federation of European Biochemical Societies- FEBS Letters*. 2001; v.507, p.142-6.

<sup>271</sup> Schramm T. y col. *Am. J. Hypertens.* 1997; v.10, n.4, Part 2.

<sup>272</sup> Strazzullo P., Galletti F. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2004; v.13, p.325-32.

<sup>273</sup> Markkola H.V., Jarvinen H.Y. *Metabolism*. 1995; v.44, n.1, p.85-9.



trabajo de los nitratos se centra en la producción de NO, cuya función es principalmente la relajación de músculo liso.

Resulta pues, paradójico que fármacos antianginosos con eficacia clara y acreditada en la cardiopatía isquémica, reduzcan y no eleven los niveles de adiponectina, situación esta, que podría ser inconveniente en el desarrollo y evolución de las patologías metabólicas y cardiovasculares de interés en nuestra investigación.

#### Fármacos evaluados en la segunda fase

La respuesta del nivel circulante de adiponectina en los ratones, bajo el tratamiento con los respectivos fármacos de la segunda fase, no mostró aumentos significativos frente a los niveles plasmáticos de los animales control de cada grupo, presentándose tan solo ligeros incrementos en las hembras tratadas con telmisartan, rosiglitazona y glibenclamida, este último generó un incremento próximo al nivel de significancia (6,58 a 8,45  $\mu\text{g/mL}$ ) y la rosiglitazona produjo un ligero incremento no significativo (4,88 a 6,08  $\mu\text{g/mL}$ ).

En los machos, no se observó incrementos en el nivel de adiponectina bajo ninguno de los tratamientos de la segunda fase, y solo se presentó una reducción significativa del nivel de adiponectina, tras la administración de rosiglitazona (4,17 a 3,38  $\mu\text{g/mL}$ ). Metformina, telmisartan, simvastatina y glibenclamida solo mostraron ligera reducción sin significancia sobre el nivel de la citocina.

La respuesta del nivel de adiponectina a la rosiglitazona, ha sido descrita como dependiente de la dosis, de tal forma que con los resultados obtenidos podríamos resaltar mayor susceptibilidad a la dosis utilizada (5 mg/ka\*día), de parte de las hembras que de los machos.<sup>274</sup> Esto podría explicarse, debido a mayor abundancia de tejido adiposo subcutáneo en las hembras, donde la estimulación PPAR $\gamma$  permitiría expresar más abundantemente la adiponectina, ya que en machos predomina el tejido adiposo visceral, donde la estimulación PPAR $\gamma$  expresaría menos la adiponectina.

Similar situación estaría caracterizando los resultados obtenidos sobre el nivel de esta citocina, producto del tratamiento tanto en hembras como en machos con glibenclamida y telmisartan, fármacos conocidos como agonistas parciales postranscripcionales PPAR $\gamma$ <sup>275,276</sup>, cuyo efecto en el nivel de adiponectina parece ser independiente de este receptor, pudiendo estar mediado por otros mecanismos aun desconocidos, como puede ser su efecto reductor del nivel de TNF- $\alpha$ .

De acuerdo con los resultados obtenidos, vemos que la metformina a pesar de no ocasionar un efecto significativo de reducción sobre el nivel de adiponectina, si es clara su tendencia reductora tanto en hembras como en machos (6,79 a 5,32  $\mu\text{g/mL}$  y 4,16 a 3,43  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente), lo cual como se ha descrito, se debe a la supresión de la producción y liberación de adiponectina, y hasta reducción del nivel plasmático, debida a la pérdida de grasa hepática y subcutánea ocasionada por el tratamiento con metformina.<sup>286,277</sup>

En cuanto a la ligera reducción no significativa en el nivel de adiponectina, causada por el tratamiento de las hembras con simvastatina (5.83 a 4.04  $\mu\text{g/mL}$ ) y la falta de efecto en machos (1.84 a 1.89  $\mu\text{g/mL}$ ), resulta consecuente con lo observado por Forst T. y col., en

---

<sup>274</sup> Sharma P.K. y col. *Clin. Endocrinol.* 2006; v.65, p.722-8.

<sup>275</sup> Fukuen S. y col. *J. Biol. Chem.* 2005; v.280, n.25, p.23653-9.

<sup>276</sup> Negro R., Hassan H. *JRAAS.* 2007; v.7, p.243-6. (*Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*)

<sup>277</sup> Ran T. y col. *J. Mol. Endocrinol.* 2006; v.37, p.175-83.

pacientes con DM2 tratados solo con simvastatina, para los cuales obtuvieron reducción no significativa en el nivel plasmático de esta citocina.<sup>278</sup>

El efecto de los fármacos de la segunda fase en el nivel plasmático de NEFA, mostró generalmente una reducción de diferente magnitud y significancia entre ellos, y frente al valor control, exceptuando la simvastatina en machos, que indujo un muy ligero aumento no significativo. Se vio reducción significativa causada por el telmisartan en hembras (0,75 a 0,64 mmol/L). En machos, la reducción significativa se dio por rosiglitazona (0,82 a 0,49 mmol/L), lo cual se considera sucede por estímulo de la oxidación de FA y de su depuración, reduciendo así el nivel plasmático de NEFA.<sup>279,280</sup> Igualmente lo hizo el telmisartan de 0,73 a 0,64 mmol/L, confirmando lo ya citado por Li Y.Q. y col., quienes lo atribuyeron a mejor captación de FFA en los adipocitos y en células musculares, mediado por su transportador CD36, del cual el telmisartan también mejora la expresión.<sup>281</sup>, refiriendo un mejor metabolismo de lípidos y carbohidratos en ratas macho tratadas con altas dosis de este fármaco. Ahora que, aunque la lipólisis basal en nuestro estudio, no presentó cambios significativos en ninguno de los géneros, la lipólisis evocada si fue estimulada significativamente en hembras, pero con una significativa reducción del estímulo provocado por la forskolina en machos, tal vez producto de la baja dosis de telmisartan usada en el tratamiento (1 mg/kg).

La metformina produjo un efecto contrario sobre el nivel de NEFA entre hembras y machos, aunque en ambos casos sin significancia, siendo ligeramente reducido en hembras y aumentado en machos, siendo más representativo el efecto en los machos, sabiéndose que la metformina no produce reducción de la grasa hepática.<sup>282</sup>

La reducción de NEFA producida por la rosiglitazona, confirma y concuerda con una mejor captación de estos en adipocitos e hígado, como ya ha sido citado.<sup>283</sup> Igualmente se ajusta con la ya citada reducción de la lipólisis evocada, causada por la rosiglitazona, situación igualmente encontrada *in vivo*.<sup>284</sup>

La simvastatina no redujo el nivel de NEFA, ya que este efecto solo se presenta bajo altas dosis de este fármaco, según se ha descrito anteriormente<sup>285</sup>, mostrando acuerdo con lo ya conocido, respecto a que las dosis terapéuticas regulan el metabolismo lipídico, a través de un ligero incremento del C-HDL, reducción del C-LDL y TG.<sup>286</sup> También la glibenclamida manifestó efectos congruentes, al reducir la lipólisis y aunque no significativamente, el nivel de NEFA como ya ha sido comentado en otros trabajos.<sup>287</sup>

Los fármacos probados en la segunda fase, que indujeron reducción de la lipólisis basal en los adipocitos de los machos, fueron la simvastatina con un alto porcentaje de 70,82% y la glibenclamida con una ligera y no significativa reducción del 1,23%.

En la evaluación de la lipólisis *in vitro* en adipocitos de las hembras, la glibenclamida redujo significativamente la lipólisis basal (12,23%), produciendo también una reducción muy

---

<sup>278</sup> Forst T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.491-6.

<sup>279</sup> Wang P. y col. *Diabetologia.* 2007; v.50, p.654-65.

<sup>280</sup> Cadoudal T. y col. *Diabetologia.* 2007; v.50, p.666-75.

<sup>281</sup> Li Y.Q. y col. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2006; v.373, p.264-70.

<sup>282</sup> Tiikainen M. col. *Diabetes.* 2004; v.53, p.2169-76.

<sup>283</sup> Wang P. y col. *Diabetologia.* 2007; v.50, p.654-65.

<sup>284</sup> James A.P. y col. *Diabetes Obes. Metab.* 2005; v.7, p.381-9.

<sup>285</sup> Isley W.L. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.758-62.

<sup>286</sup> Sasaki J. y col. *J. Atheroscler. Thromb.* 2006; v.13, n.3 p.123-9.

<sup>287</sup> Hanefeld M. y col. *Nutrition Metab. Cardiovascular Diseases.* 2007; v.17, p.13-23.

significativa de la lipólisis evocada por forskolina tanto en hembras como en machos (31,17% en machos y 15,34% en hembras). Situación también provocada con la rosiglitazona (12,64% en machos y 19,12% en hembras). En cuanto al efecto producido por el tratamiento con metformina o simvastatina, puede observarse, que a pesar de no generar una reducción de la lipólisis, si se aprecia que el incremento de las lipólisis evocadas con forskolina, fue significativamente inferior en las muestras de animales tratados con estos fármacos, frente a las de los animales control no tratados.

En cuanto a la lipólisis evocada por forskolina en adipocitos de machos, no fue reducida por la metformina, mientras los porcentajes de reducción por telmisartan y simvastatina fueron respectivamente los siguientes: 30,55% y 22,03% respectivamente.

En cuanto a los resultados de los efectos de estos fármacos, sobre los niveles de glucosa plasmática, podemos resaltar que frente al nivel de glucosa en los animales control, tanto en hembras como en machos, solo la rosiglitazona produjo una significativa reducción (9,67 a 4,16 mmol/L en hembras y 13,32 a 8,70 mmol/L en machos).

En machos los demás fármacos (telmisartan, simvastatina, glibenclamida y metformina), mostraron también reducción del nivel de glucosa, pero no fue significativa frente al nivel control. A pesar de esto, las reducciones por simvastatina, glibenclamida y metformina fueron bastante amplias (9,21 a 7,05 mmol/L, 12,74 a 10,47 mmol/L y 9,19 a 7,00 mmol/L, respectivamente), cercanas al límite de significancia.

El nivel de glucosa en las hembras tratadas con metformina y simvastatina, fue reducido ligeramente, sin llegar al límite de significancia. Con glibenclamida y telmisartan, hubo un ligero incremento no significativo.

La reducida eficacia para disminuir la glucosa sanguínea mostrada por la glibenclamida en machos, y el ligero aumento producido en hembras, puede deberse a que un prolongado tratamiento con ella, disminuye el efecto reductor de la glicemia por agotamiento de las células  $\beta$ , pudiendo por el contrario incrementarla.<sup>288</sup>

El reducido efecto de la metformina, a pesar de ser un fármaco antihiperlipémico, que en nuestro estudio no mostró efectos significativos, puede estar justificado, ya que se ha resaltado en otros estudios, que en individuos normales no produce hipoglicemia<sup>289,290</sup>, como es el caso de nuestros animales de experimentación.

El telmisartan aumenta la expresión del GLUT4 y la captación de glucosa en músculo esquelético, en pacientes diabéticos hipertensos<sup>291</sup>, quizá como resultado de su efecto agonista parcial PPAR $\gamma$ , aunque en el estudio no genero efecto relevante o significativo en la glucosa sanguínea, quizás producto de la baja dosis usada (1 mg/kg).

Sobre la simvastatina, se ha resaltado un efecto deteriorante del control glicémico, por daño en la producción de ubiquinona, ya que esta es transportador importante de electrones en la cadena respiratoria para la producción del ATP, necesario en la captación de glucosa y regulación de la translocación del GLUT4<sup>292</sup>, de tal forma, que por este motivo podría no haber dado mayor reducción de la glucosa plasmática, como fue visto en este estudio, al no ser una reducción significativa tanto en hembras como en machos, la producida por la simvastatina.

La falta de efecto en el nivel de glucosa de fármacos como glibenclamida y metformina, se justifica con lo expresado en la publicación de James A.P. y col.<sup>332</sup>, donde se menciona, que este efecto parece ser influenciado, por el nivel de glicemia preexistente en individuos

---

<sup>288</sup> Hanefeld M. y col. *Nutrition Metab. Cardiovascular Diseases*. 2007; v.17, p.13-23.

<sup>289</sup> James A.P. y col. *Diabetes Obes. Metab.* 2005; v.7, p.381-9.

<sup>290</sup> Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.

<sup>291</sup> Kintscher U., Unger T. *Acta Diabetol.* 2005; v.42, p.S26-32.

<sup>292</sup> Sasaki J. y. *J. Atheroscler. Thromb.* 2006; v.13, n.3 p.123-9.

prediabéticos o sanos, lo cual explicaría la incapacidad de estos tratamientos, para reducir la glucosa en los animales de experimentación sanos.

#### Evaluación de la adiponectina en individuos con vasculopatía

De acuerdo con la revisión retrospectiva de la situación clínica de los hombres participantes en el estudio, el tratamiento seguido y la evolución de estos pacientes, encontramos en primer lugar que en el grupo de individuos control existen tres subgrupos:

- 1- El primero, de cuatro individuos cuyo diagnóstico corresponde exclusivamente a una vasculopatía, en los que sus historias clínicas además no citan anormalidades considerables en los parámetros clínicos de evaluación (glucosa plasmática, perfil lipídico (CT, C-HDL, C-LDL y TG)), ni prescripción farmacológica alguna. Siendo así, podríamos considerar este subgrupo como control absoluto de evaluación, siendo el más adecuado para tal finalidad, cuyos valores sanguíneos promedio corresponden a: adiponectina 5.7 µg/mL, glicemia 100 mg/dL, CT 210 mg/dL, C-HDL 50 mg/dL, C-LDL 129 mg/dL y TG 158 mg/dL.
- 2- Un segundo subgrupo de cinco pacientes, diagnosticados con patología isquémica, hipertensiva o de claudicación, tratados tan solo con un antiagregante plaquetario (clopidogrel) y una metilxantina, poseen como nivel sérico promedio de los parámetros de evaluación los siguientes: adiponectina 8.7 µg/mL, glucemia 108 mg/dL, CT 218 mg/dL, C-HDL 58 mg/dL, C-LDL 143 mg/dL y TG 89 mg/dL.
- 3- En el tercer subgrupo los restantes ocho individuos control, corresponden a pacientes con patología isquémica o ateromatosa, algunos entre los cuales se presenta valores de riesgo de acuerdo con los estándares de colesterol de la Sociedad Española de Aterosclerosis (SEA) (Colesterol Total > 200 mg/100 mL, C-HDL < 35 mg/100 mL, C-LDL > 150 mg/100 mL, TG > 200 mg/dL)<sup>293</sup>, con valores promedio de estos parámetros así: adiponectina 8.7 µg/mL, glucemia 105 mg/dL, CT 225 mg/dL, C-HDL 42 mg/dL, C-LDL 155 mg/dL y TG 123 mg/dL.

Siendo así y pensando en estar acorde con los parámetros de inclusión de los individuos que mejores condiciones presentan, para servir como control de referencia, el grupo general de individuos control asumido (compuesto por 17 pacientes), cuenta con algunos que fueron tratados con medicación particular, para el control de su cuadro patológico correspondiente y que otros no recibieron medicación alguna, encontrándose que no presentaron diferencias significativas entre los valores promedio de cada uno de los parámetros de evaluación entre los tres subgrupos, siendo así unificados como un único grupo control, obteniéndose como promedio de estos parámetros los siguientes valores: adiponectina sérica 8.6 µg/mL, glicemia 108 mg/dL, CT 215 mg/dL, C-HDL 47 mg/dL, C-LDL 141 mg/dL y TG 131 mg/dL.

Los niveles plasmáticos de adiponectina en este grupo de pacientes control, refleja sin embargo un efecto considerable de la condición patológica de los pacientes, al involucrar principalmente cuadros isquémicos y ateromatosos, además de casos de desarreglo metabólico, considerando que el valor promedio de adiponectina obtenido esta más hacia el

---

<sup>293</sup> Balcells A.G. 2002. La clínica y el laboratorio. Madrid. Masson. 19º ed., p.91-2.

valor inferior, en el intervalo de valores promedio normales en humanos ( 5 a 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), y asumiéndose que entre mayor desarreglo metabólico y cardiovascular patológico se presente, menores niveles séricos de adiponectina son vistos.

Entre los 9 pacientes hombre con DM2 y patología vascular principalmente isquémica y obstructiva o de claudicación, algunos presentan dislipidemia de acuerdo con la SEA, y han sido tratados farmacológicamente procurando controlar su situación patológica, encontrándose en ellos un nivel promedio de adiponectina sérica de 4.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Siendo significativamente inferior al nivel de los individuos control, debido posiblemente a la reducción plasmática de adiponectina, causada por los elevados valores glicémicos, en la mayoría de los casos superiores a 130 mg/dL (media de 151 mg/dL).

El nivel bajo de adiponectina de los pacientes de este grupo, refleja la inexistencia de tratamiento farmacológico de la DM2, pero si la existencia de terapias con antiagregantes plaquetarios (ASA, triflunisal y clopidogrel), hipolipemiantes (simvastatina y atorvastatina), antihipertensivos (enalapril, metoprolol, telmisartan) y diurético (amilorida), sin embargo al parecer estos fármacos no contribuyen mucho a regular el nivel de adiponectina, observándose que la terapia que mejor lo hace corresponde a la combinación de atorvastatina, telmisartan y amilorida, seguido por la combinación clopidogrel, enalapril y flecainida. Es de resaltar, que el individuo con el mejor nivel de adiponectina de este grupo, en su historia clínica no reporta prescripción de fármaco alguno.

El grupo de mujeres control estuvo compuesto por tres pacientes con diagnóstico de HTA, hipercolesterolemia o claudicación, cuya terapéutica farmacológica comprendió el uso de  $\beta$ -bloqueadores, estatinas y antiagregante plaquetarios, siendo determinado para ellas un nivel de adiponectina de 14.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , significativamente superior al valor de los individuos control hombres.

Se presentaron dos pacientes diabéticas con concomitante enfermedad vascular, tratadas principalmente con insulina (glargina y lispro), las cuales mostraron un nivel sérico de adiponectina de 10.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , el cual no resultó ser significativamente diferente frente al valor de las pacientes control. La insulina parece estar mediando un mejor nivel de adiponectina plasmática, reduciendo la significancia en la disminución del nivel plasmático de esta citosina suscitada por la diabetes, frente al nivel de las mujeres control. Estos datos concuerdan y confirman lo descrito por Halleux y col., quienes citan que la insulina induce la secreción y el gen de expresión de la adiponectina *in vitro*, en adipocitos viscerales humanos<sup>294</sup>, por tanto contribuye a regular el correcto funcionamiento metabólico.

Algo importante a resaltar, es que fue perfectamente evidenciado, que el nivel de adiponectina en las mujeres control con vasculopatía periférica, resulta ser significativamente mayor que el nivel en los hombres control con vasculopatía periférica (14.7 vs. 8.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Igualmente el nivel plasmático de adiponectina de los hombres control, resulta ser significativamente mayor que el nivel en los hombres diabéticos con vasculopatía periférica (8.6 vs.4.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), sin embargo entre las mujeres control y diabéticas la diferencia no resulto ser significativa (14.7 vs. 10.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), lo cual lo atribuimos a que fueron mujeres diabéticas tratadas con insulina glargina y en uno de los casos, además con insulina lispro.

Una gran proporción de los pacientes incluidos en el estudio, presentaron significativa reducción de la concentración de adiponectina, lo cual resulta ser una característica y

---

<sup>294</sup> Halleux C. M. y col. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; v.288, p.1102–7.

consecuencia del engrosamiento de la intima media, historia de infarto de miocárdico previo, angina pectoris, HTA bajo tratamiento, alta concentración de TG séricos, elevada glucosa en ayunas, alto nivel de HbA1c y bajo nivel de C-HDL, como puede ser característico en los pacientes del estudio.<sup>295</sup>

De acuerdo con lo determinado en las pruebas realizadas en el modelo animal descrito, puede observarse congruencia con el comportamiento del nivel sérico de adiponectina en humanos tratados con amlodipino y nitroderivados (animales con dinitrato de isosorbide y humanos con nitroglicerina), ya que en ratones macho fue reducido el nivel de adiponectina y en hembras no fue modificado, mientras en los humanos tratados con estos fármacos, el nivel de adiponectina permaneció en el límite inferior normal 5.5 µg/mL. Sin embargo un trabajo publicado por Yilmaz M.I. y col. en 2007, de su investigación en pacientes con HTA y síndrome metabólico, cita como efecto del amlodipino incremento significativo del nivel de adiponectina, reduciendo concomitantemente el de insulina y CT.

En el caso de los pacientes tratados con β-bloqueadores como el metoprolol y el atenolol, se pudo observar un reducido nivel promedio de adiponectina sérica en torno de 4.9 µg/mL, confirmándose así, lo observado en el modelo animal con ratones hembra, en las que el metoprolol redujo significativamente el nivel de la citocina. Igualmente para este fármaco, Yilmaz M.I. describe, que en los pacientes tratados con metoprolol no hubo cambios significativos en la concentración de adiponectina.<sup>296</sup>

Entre los IECA usados en la farmacoterapia de los pacientes del estudio, estuvo enalapril y lisinopril, observándose un nivel promedio de adiponectina en estos pacientes de 6.2 µg/mL, lo cual también resulta congruente con lo determinado mediante el modelo animal, en donde el enalapril tan solo indujo un ligero incremento no significativo en el nivel de adiponectina en hembras. Efecto que también ha sido ya citado por otros investigadores, que comentan la hipoadiponectinemia asocia a la disfunción endotelial, encontrando que los inhibidores de la ECA incrementan el nivel sérico de adiponectina, de insulina y C-HDL, biodisponibilidad que aumenta la activación del óxido nítrico sintasa.<sup>308,297</sup>

Debido a la combinación de la terapéutica farmacológica de la patología vista en este estudio, resulta difícil establecer si este nivel promedio de adiponectina hallado y que está cercano al nivel superior presentado por los pacientes con PAOD y DM2 incluidos (6.6 µg/mL), es debido al efecto del IECA, o al de uno de los otros fármacos o bien, a la combinación de ellos usada.

En cuanto al salicilato más usado en el tratamiento de los pacientes del estudio, la aspirina, que fue el mismo evaluado en el modelo animal, de igual manera que en este, en los humanos el ASA pareció no modificar significativamente el nivel de adiponectina en plasma de los pacientes que lo usaron, mostrándose niveles promedio de 5.8 µg/mL de adiponectina, nivel característico en pacientes con PAOD, DM2 y demás disfunciones metabólicas que predisponen a estas enfermedades, viéndose que este valor, se encuentra dentro del intervalo del nivel de adiponectina, hallado en la población de estudio con estas patologías concomitantes ( de 2.1 a 6.6 µg/mL).

Los pacientes usando estatinas para el control de su dislipidemia, entre ellas la simvastatina, atorvastatina y pravastatina, arrojan un nivel promedio de adiponectina de 4,6 µg/mL, algo

---

<sup>295</sup> Behre C.J. y col. *J. Intern. Med.* 2006; v.260, n.3, p.238–44.

<sup>296</sup> Yilmaz M. I y col. *Nephrology.* 2007; v.12, p.147–153.

<sup>297</sup> Mohlig M. y col. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; v.91, p.964–7.

inferior al valor promedio del grupo, resultando consecuente también con lo observado en el modelo animal con la simvastatina, para la cual se encontró en animales tanto en hembras como en machos, una ligera reducción no significativa del nivel de adiponectina plasmática, situación igualmente reportada por Forst T. y col. tras su investigación en pacientes con DM2 tratados únicamente con simvastatina.<sup>298</sup>

A pesar de que tan solo dos pacientes fueron tratados con fármacos ARB entre ellos el valsartán y el telmisartán, el primero usado en un paciente control en el que el nivel de adiponectina fue 9.1 µg/mL y el según usado en un paciente con PAOD y DM2, que tuvo un nivel de 6.8 µg/mL, lo cual concuerda con lo observado en el modelo animal para las hembras, en las que se vio un ligero incremento en el nivel de la citocina, pero contrasta con lo observado en los machos en los que hubo una ligera reducción no significativa. Sin embargo, podríamos confirmar que lo comentado por Derosa y col. y otros investigadores, sobre el incremento de la concentración de adiponectina inducido por los IECA, es una realidad, principalmente en pacientes diabéticos cuando la farmacoterapia es combinada con TZD como la rosiglitazona, por ser ambos activadores selectivos del PPAR $\gamma$ .<sup>299</sup>

Debido al limitado uso de fármacos hipoglicemiantes como biguanidas (metformina), TZD (rosiglitazona) y diuréticos (furosemida) en los pacientes del estudio, no se posee información suficiente, que nos permita inferir sus efectos sobre el nivel de adiponectina y correlacionarlo con lo observado en el modelo animal, bajo tratamiento con estos fármacos.

---

<sup>298</sup> Forst T. y col. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.491-6.

<sup>299</sup> Derosa G. y col. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2007; v.32, p.261–26.

## CONCLUSIONES

1. La evaluación de niveles circulantes de adiponectina en el modelo animal trabajado, determinados en animales no ayunados tanto para la primera fase como para la segunda, mostró niveles significativamente más elevados en las hebras que en los machos.
2. A pesar de la clara diferencia en los niveles de adiponectina entre géneros, del modelo animal usado tanto en las evaluaciones de la primera fase como las de la segunda, los niveles circulantes de ácidos grasos libres y glucosa fueron similares entre machos y hembras.
3. En ambas fases de evaluación del modelo animal, fue evidente que los niveles de adiponectina más elevados en hembras, se correlacionan con tendencia a una lipólisis basal más reducida y una mayor respuesta lipolítica inducida por forskolina.
4. En la primera fase de evaluación del modelo animal, bajo las condiciones experimentales descritas, no existió correlación entre la eficacia antianginosa de los fármacos de estudio y los niveles circulantes de adiponectina.
5. En la segunda fase de evaluación del modelo animal, fue evidente una clara tendencia de incremento en los niveles de adiponectina suscitado por telmisartan, rosiglitazona y glibenclamida; en contraste la metformina y simvastatina mostraron clara tendencia reductora del nivel de esta citocina.
6. Los niveles séricos de adiponectina en pacientes con PAOD, son significativamente mayores en mujeres que en hombres.
7. La instauración de DM, reduce aún más los niveles de adiponectina en ambos sexos.
8. Es claro el efecto conservador de los niveles séricos de adiponectina, en pacientes con PAOD y DM2, tratados con insulina glargina y/o lispro.
9. Se confirma en clínica, que los fármacos antiisquémicos, no incrementan, al igual que en el ratón normal, los niveles circulantes de adiponectina.
10. Si bien esta citocina puede ser marcador fiable de una patología específica, como la isquemia vascular y/o la diabetes mellitus, no parece ser un indicador de la evolución favorable de estas patologías, bajo tratamiento específico de eficacia ampliamente documentada.



## Bibliografía:

1. Abbasi F., Chu J.W., McLaughlin T., Lamendola C., Leary E.T., Reaven G.M. Effect of metformin treatment on multiple cardiovascular disease risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2004; v.53, n.2, p.159-64.
2. Abo-Hashema K.A.H., Cake M.H., Power G.W., Clarke D. Evidence for triacylglycerol synthesis in the lumen of microsomes via a lipolysis-esterification pathway involving carnitine acyltransferases. *J. Biol. Chem.* 1999-2000; v.274, n.50, p.35577-82.
3. Agata J., Nagahara D., Kinoshita S., Takagawa Y., Moniwa N., Yoshida D., Ura N., Shimamoto K. Angiotensin II receptor blocker prevents increased arterial stiffness in patients with essential hypertension. *Circ. J.* 2004; v.68, p.1194–8.
4. Ahlner J., Andersson R.G.G., Torfgard B.K., Axelsson K.L. Organic nitrate esters: clinical use and mechanisms of actions. *Pharmacol Rev.* 2005; v.43, n.3, p.351-423.
5. Albertini J.P., McMorn S.O., Chen H., Mather R.A., Valensi P. Effect of rosiglitazone on factors related to endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2007; v.195, p.e159-66.
6. Araki T., Emoto M., Teramura M., Yokohama H., Mori K., Hatsuda S., Maeno T., Shinohara K., Koyama H., Shoji T., Inaba M., Nishizawa Y. Effect of adiponectin on carotid arterial stiffness in type 2 diabetic patients treated with pioglitazone and metformin. *Metab. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.996-1001.
7. Arauz-Pacheco C., Lender D., Breen L., Mora-Mora P., Snell P., Ramirez L.C., Raskin P. A double-blind comparison of the effects of amlodipine and enalapril on insulin sensitivity in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1995; v.8, n.4, Part 2, p.44A.
8. Arita Y., Kihara S., Ouchi N., Takahashi M., Maeda K., Miyagawa J., Hotta K., Shimomura I., Nakamura T., Miyaoka K., Kuriyama H., Nishida M., Yamashita S., Okubo K., Matsubara K., Muraguchi M., Ohmoto Y., Funahashi T., Matsuzawa Y. Paradoxical Decrease of an Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Obesity. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1999; v.257, p.79–83.
9. Bacha F., Saad R., Gungor N., Arslanian S.A. Adiponectin in Youth: Relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity, and  $\beta$ -cell function. *Diabetes Care*. 2004; v.27, p.547-52.
10. Bahia L., Aguiar L.G.K., Villela N., Bottino D., Godoy-Matos A.F., Goloneze B., Tambascia M., Bouskela E. Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2007; v.195, p.138-46.
11. Balcells A.G. 2002. La clínica y el laboratorio. Masson. 19<sup>o</sup> ed., p.91-2.
12. Behre C.J., Brohall G., Hulthe J., Wikstrand J., Fagerberg B. Are serum adiponectin concentrations in a population sample of 64-year-old Caucasian women with varying glucose tolerance associated with ultrasound-assessed atherosclerosis? *J. Intern. Med.* 2006; v.260, n.3, p.238–44.
13. Benndorf R.A., Rudolph T., Appel D., Schwedhelm E., Maas R., Schulze F., Silberhorn E., Boger R.H. Telmisartan improves insulin sensitivity in nondiabetic patients with essential hypertension. *Med. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.1159-64.
14. Bodary F.B., Eitzman D.T. Adiponectin. Vascular protection from the fat? *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.235-6.
15. Boudou P., Sobngwi E., Mauvais-Jarvis F., Vexiau P., Gautier J.F. Absence of exercise-induced variations in adiponectin levels despite decreased abdominal

- adiposity and improved insulin sensitivity in type 2 diabetic men. *Eur. J. Endocrinol.* 2003; v.149, p.421–4.
16. Bråkenhielm E., Veitonma N., Cao R., Kihara S., Matsuzawa Y., Zhivotovsky B., Funahashi T., Cao Y. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004; v.101, p.2476-81.
  17. Braunwald E., y col. HARRISON'S Principles of Internal Medicine. 2001, 15<sup>th</sup> Edt., Vol. 1, p.1434-5. Mc Graw Hill.
  18. Bulcão C., Giuffrida F.M.A., Ribeiro-Filho F.F., Ferreira S.R.G. Are the beneficial cardiovascular effects of simvastatin and metformin also associated with a hormone-dependent mechanism improving insulin sensitivity? *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2007; v.40, n.2, p.229-35.
  19. Cadoudal T., Blouin J.M., Collinet M., Fouque F., Tan G.D., Loizon E., Beale E.G., Frayn F., Karpe K.N., Vidal H., Benelli C., Forest C. Acute and selective regulation of glyceroneogenesis and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase in adipose tissue by thiazolidinediones in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2007; v.50, p.666-75.
  20. Ceriello A., Quagliario L., Piconi L., Assaioni R., Da Ros R., Maier A., Esposito K., Giugliano D. Effect of postprandial Hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes.* 2004; v.53, p.701-10.
  21. Celik T., A. Iyisoy, H. Kursaklioglu, E. Kardesoglu, S. Kilic, H. Turhan, M.I. Yilmaz, O. Ozcan, H. Yaman, E. Isik, F. Fici. Comparative effects of nebivolol and metoprolol on oxidative stress, insulin resistance, plasma adiponectin and soluble P-selectin levels in hypertensive patients. *J. Hipertensión.* 2006; v.24, p.591–6.
  22. Chen J.W., Hsu N.W., Wu T.C., Liu S.J., Chang M.S. Long term angiotensin converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. *Am. J. Cardiol.* 2002; v.90, p. 974-82.
  23. Chen M.B., McAinch A.J., Macaulay S.L., Castelli L.A., O'Brein P.E., Dixon J.B. Cameron-Smith D., Kemp B.E., Steinberg G.R. Impaired activation of AMP-Kinase and fatty acid oxidation by globular adiponectin in cultured human skeletal muscle of obese type 2 diabetics. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 2005; v.90, p.3665-72.
  24. Clasen R., Schupp M., Foryst-Ludwig A., Sprang C., Clemenz M., Krikov M., Thone-Reineke C., Unger T., Kintscher U. PPAR $\gamma$ -activating angiotensin type-1 receptor blockers induce adiponectin. *Hypertension.* 2005; v.46, p.137-43.
  25. Cline M.J., Williams H.E. The clinical pharmacology of salicylates. *California Medicine.* 1969; v.110, n.5, p.410-22.
  26. Comuzzie A.G., Funahashi T., Sonnenberg G., Martin L.J., Jacob H.J., Kwitek Black A.E., Maas D., Takahashi M., Kihara S., Tanaka S., Matsuzawa Y, Blangero J., Cohen D., Kissebah A. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *J Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; v.86, p.4321–5.
  27. Copstead L.C., Banasik J.L. (2005) Pathophysiology 3<sup>a</sup> Edt. Elsevier, St. Louis Missouri, p. 416-25.
  28. Cuccurullo C., Iezzi A., Fazia M.L., De Cesare D., Di Francesco A., Muraro R., Bei R., Uchino S., Spigonardo F., Chiarelli F., Schmidt A.M., Cuccurullo F., Mezzetti A., Cipollone F. Supresión of RAGE as a basis of simvastatina-

- dependent plaque stabilization in type 2 diabetes. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.2716-23.
29. Daimon M., Oizumi T., Saitoh T., Kameda W., Hirata A., Yamaguchi H., Ohnuma H., Igarashi M., Tominaga M., Kato T. Decreased Serum Levels of Adiponectin Are a Risk Factor for the Progression to Type 2 Diabetes in the Japanese Population. *Diabetes Care*, 2003; v.26, n.7.
  30. Day J.L., Metcalf J., Simpson C.N. Adrenergic mechanisms in control of plasma lipid concentrations. *British Medical Journal.* 1982; v.284, p.1145-48.
  31. Derosa G., Fogari E., Cicero A.F.G., D'Angelo A., Ciccarelli L., Piccinni M.N., Pricolo F., Salvadeo S.A.T., Gravina A., Ferrari I., Fogari R. Blood pressure control and inflammatory markers in type 2 diabetic patients treated with pioglitazone or rosiglitazone and metformin. *Hypertens. Res.* 2007; v.30, 387-94.
  32. Derosa G., Fogari E., D'Angelo A., Cicero A.F.G., Salvadeo S.A.T., Ragonesi P.D., Ferrari I., Gravina A., Farsi R., Fogari R. Metabolic effects of telmisartan and irbesartan in type 2 diabetic patients with metabolic syndrome treated with rosiglitazone. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2007; v.32, p.261-8.
  33. Desurik R., Sputova V., Gaidos M. Nitric oxide modulation of metabolic and hemodynamic balance. *Bratisl Lek Listy.* 2005, v.106, n.8-9, p.252-6.
  34. Dieplinger B., Poelz W., Haltmayer M., Mueller T. Hypoadiponectinemia is associated with symptomatic atherosclerotic peripheral arterial disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2006; v.44, n.7, p.830-3.
  35. Dietze-Schroeder D., Sell H., Uhlig M., Koenen M., Eckel J. Autocrine action of adiponectin on human fat cells prevents the release of insulin resistance-inducing factors. *Diabetes* 2005; v.54, p.2003-11.
  36. Dimitriadis G., Leighton B., Parry-Billings M., Tountas C., Raptis S., Newsholme E.A. Furosemide decreases the sensitivity of glucose transport to insulin in skeletal muscle in vitro. *Eur. J. Endocrinol.* 1998; v.139, p. 118-22.
  37. Ding G., Qin Q., He N., Francis-David S.C., Hou J., Liu J., Ricks E., Yang Q. Adiponectin and its receptors are expressed in adult ventricular cardiomyocytes and upregulated by activation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ . *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2007; v.43, p.73-84.
  38. Dobbins R.L., Chester M.W., Stevenson B.E., Daniela M.B., Satin D.T. McGarry D. A fatty acids-dependent step is critically important for both glucose-and-non-glucose-stimulated insulin secretion. *J.Clin. Invest.* 1998; v.101, p.2370-6.
  39. Doria A. Adipokine genes and the insulin-resistance syndrome. *International Congress Series.* 2003; v.1253, p. 63- 71.
  40. Dorkhan M., Magnusson M., Frid A., Grubb A., Groop L., Jovinge S. Glycaemic and nonglycaemic effects of pioglitazone in triple oral therapy of patients with type 2 diabetes. *J. Inter. Med.* 2006; v.260, p.125-33.
  41. Dyck J.R.B., Lopaschuk G.D. AMPK alterations in cardiac physiology and pathology: enemy or ally? *J. Physiol.* 2006; v.574, n.1, p.95-112.
  42. Eguchi K., Tomizawa H., Ishikawa J., Hoshida S., Numao T., Fukuda T., Shimada K., Kario K. Comparison of the effects of pioglitazone and metformin on insulin resistance and hormonal markers in patients with impaired glucose tolerance and early diabetes. *Hypertens. Res.* 2007; v.30, p.23-30.
  43. El Midaoui A., Wu R., De Champlain J. Prevention of hypertension, hyperglycemia and vascular oxidative stress by aspirin treatment in chronically glucose-fed rats. *J. Hypertens.* 2002; v.20, p.1407-12.
  44. Elbatarny H.S., Netherton S.J., Ovens J.D., Ferguson A.V., Maurice D.H. Adiponectin, ghrelin, and leptin differentially influence human platelet and human

- vascular endothelial cell functions: Implication in obesity-associated cardiovascular diseases. *Eur. J. Pharmacol.* 2007; v.558, p.7-13.
45. Emsberger P. and Koletsky R.J. Metabolic actions of angiotensin receptor antagonists: PPAR $\gamma$  agonist actions or a class effect? *Curr. Opin. Pharmacol.* 2007; v.7, p.140-5.
  46. Erbe D.V., Gartrell K., Zhang Y.L., Suri V., Kirincich S.J., Will S., Perreault M., Wang S., Tobin J.F. Molecular activation of PPAR $\gamma$  by angiotensin II type 1-receptor antagonists. *Vascular Pharmacol.* 2006; v.45, p.154-62.
  47. Fantuzzi G. y Mazzone T. *Arterioscler. Adipose tissue and atherosclerosis exploring the connection. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; v.27, p.996-1003.
  48. Fasshauer M., Kleinb J., Neumanna S., Eszlingera M., Paschkea R. Adiponectin gene expression is inhibited by L-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *Federation of European Biochemical Societies- FEBS Letters.* 2001; v.507, p.142-6.
  49. Fleming I. Signaling by the angiotensin converting enzyme. *Circ. Res.* 2006; v. 98, p.887-96.
  50. Forst T., Pfutzner A., Lubben G., Weber M., Marx N., Karagiannis E., Koehler C., Baurecht W., Hobberg C., Hanefeld M. Effect of simvastatin and/or pioglitazone on insulin resistance, insulin secretion, adiponectin, and proinsulin levels in nondiabetic patients at cardiovascular risk – the PIOSTAT study. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.491-6.
  51. Fujimoto M., Masuzaki H., Tanaka T., Yasue S., Tomita T., Okazawa K., Fujikura J., Chusho H., Ebihara K., Hayashi T., Hosoda K., Nakao K. An angiotensin II AT1 receptor antagonist, telmisartan augments glucosa uptake and GLUT4 protein expresión in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Letters.* 2004; v.576, p.492-7. (*Federation of European Biochemical Societies Published*)
  52. Fujita H., Fujishima H., Koshimura J., Hosoba M., Yoshioka N., Shimotomai T., Morii T., Narita T., Kakei M., Ito S. Effects of antidiabetic treatment with metformin and insulin on serum and adipose tissue adiponectin levels in db/db mice. *Endocrine J.* 2005; v.52, n.4, p.427-33.
  53. Fukuen S., Iñaki M., Yasui A., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I. Sulfonylurea agents exhibit peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  agonistic activity. *J. Biol. Chem.* 2005; v.280, n.25, p.23653-9.
  54. Fukuzawa M., Ohta S., Takahashi K., Miyaguchi S., Qiang X., Sakata Y., Nakazawa T., Takizawa Y., Toyota T. Modulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  production with anti-hypertensive drugs. *Immunopharmacology.* 2000; v.48, p.65–74.
  55. Fukuzawa S., Ozawa S., Iganaki M., Sugioka J., Daimon M., Kushida S. Angiotensin converting enzyme inhibitor therapy effects myocardial fatty acid metabolism after acute myocardial infarction. *J. Nucl. Cardiol.* 2000; v.7, p.23-8.
  56. Garcia-Barrdo M.J., Ravier M.A., Rolland J.F., Gilon P., Nenquin M., Henquin J.C. Inhibition of protein synthesis sequentially impairs distinct steps of stimulus-secretion coupling in pancreatic beta cells. *Endocrinology.* 2001; v.142, p.299-307.
  57. Goldstein B.J., Scalia R. Adiponectina: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, n.6, p.2563-8.
  58. Gonon A., Bulhak A., Labruto F., Sjoquist P.O., Pernow J. Cardoprotection mediated by rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand, in relation to nitric oxide. *Basic Res. Cardiol.* 2007; v.107, p.80-9.

59. Haas M.J., Horani M.H., Parseghian S.A., Mooradian A.D. Statins prevent dextrose-induced endothelial barrier dysfunction, possibly through inhibition of superoxide formation. *Diabetes*. 2006; v.55, p.274-9.
60. Halleux C. M., Takahashi M., Delporte M.L., Detry R., Funahashi T., Matsuzawa Y., Brichard S.M. Secretion of adiponectin and regulation of apm1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; v.288, p.1102-7.
61. Halperin F., Beckman J.A., Patti M.E., Trujillo M.E., Garvin M., Creager M.A., Scherer P.E., Goldfine A.B. The role of total and high-molecular-weight complex of adiponectin in vascular function in offspring whose parents both had type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005; v.48, p.2147-54.
62. Hanefeld M., Patwardhan R., Jones N.P., A one-year study comparing the efficacy and safety of rosiglitazone and glibenclamide in the treatment of type 2 diabetes. *Nutrition Metab. Cardiovascular Diseases*. 2007; v.17, p.13-23.
63. Hardie D.G., Hawley S.A., Scott J.W. AMP-activated protein kinase-development of the energy sensor concept. *J. Physiol.* 2006; v.574, n.1, p.7-15.
64. Hardman J.G., Limbird L.E., Goodman A.G. (2003). Las bases farmacológicas de la terapéutica, 10ª ed. Mc Graw Hill Interamericana, México D.F., p.258-69, 707-12, 779-84, 855-71.
65. Harrold M, (2002) Angiotensin converting enzyme inhibitors, antagonists and calcium blockers en Foye's principles of medicinal chemistry. 5 Ed. Lipincott Williams and Wilkins, Baltimore. p.309, 533-61.
66. Havel P.J. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr. Opin. Lipidol.* 2002; v.13, p.51-59.
67. He W., Barak Y., Hevener A., Olson P., Liao D., Le J., Nelson M., Ong E., Olefsky J.M., Evans R.M. Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  Knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *PNAS*. 2003; v.100, n.26, p.1512-7.
68. Hill G.E., Wong K.C., Shaw L., Blatnick R.A. Acute and chronic changes in Intra and extracellular potassium and responses to neuromuscular blocking agents. *Anesth Analg.* 1978; v.57, p.417-21.
69. Hotamisligil G.S., Shargil V.S., Spiegelman B.M.S. Adipose expression of tumor necrosis factor alfa: direct role in obesity linked insulin resistance. *Science*. 1993; v.259, p.87-91.
70. Hotta K., Funahashi T., Arita Y., Takahashi M., Matsuda M., Okamoto Y., Iwahashi H., Kuriyama H., Ouchi N., Maeda K., Nishida M., Kihara S., Sakai N., Nakajima T., Hasegawa K., Muraguchi M., Ohmoto Y., Nakamura T., Yamashita S., Hanafusa T., Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2000; v.20, p.1595-9.
71. Huypens P. Adipokines regulate systemic insulin sensitivity in accordance to existing energy reserves. *Med. Hypoth.* 2007; v.69, p.161-5.
72. Huypens P., Quartier E., Piperleers D., Van de Castele M. Metformin reduces adiponectin protein expresión and release in 3T3-L1 adipocytes involving activation of AMP activated protein kinase. *Eur. J. Pharmacol.* 2005; v.518, p.90-5.
73. Iglesias Osma M.C., M.A. Torres, M.J. Garcia Barrado, J. Moratinos. Adipocitocinas: implicaciones en el pronóstico y tratamiento farmacológico de la patología vascular. *Rev.Clin. Esp.* 2008; v.208, n.5, p.239-46.

74. Inukai K., Watanabe M., Nakshima Y., Takata N., Isoyama A., Sawa T., Kurihara Y., Awata T., Katayama S. Glimepiride enhances intrinsic peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  activity in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; v.328, p.484-90.
75. Iozzo P., Hallsten K., Oikonen V., Virtanen K.A., Parkkola R., Kempainen J., Solin O., Lonnqvist F., Ferrannini E., Knuuti J., Nuutila P. Effects of metformin and rosiglitazone monotherapy on insulin-mediated hepatic glucose uptake and their relation to visceral fat in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003; v.26, p.2069-74.
76. Ishikawa M., Okajima F., Inoue N., Motomura K., Kato T., Takahashi A., Oikawa S., Yamada N., Shimano H. Distinct effects of pravastatin, atorvastatin, and simvastatin on insulin secretion from a  $\beta$ -cell line, MIN6 cells. *J. Atheroscler. Thromb.* 2006; v.13, n.6, p.329-35.
77. Isley W.L., Harris W.S., Miles J.M. The effect of high-dose simvastatin on free fatty acid metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metab. Clin. Exp.* 2006; v.55, p.758-62.
78. Iwashima Y., Horio T., Suzuki Y., Kihara S., Rakugi H., Kangawa K., Funahashi T., Ogihara T., Kawano Y. Adiponectin and inflammatory markers in peripheral arterial occlusive disease. *Atherosclerosis.* 2006; v.188, p.384-90.
79. Jacobs D.B., Mookerjee B.K., Jung C.Y. Furosemide inhibits glucose transport in isolated rat adipocytes via direct inactivation of carrier proteins. *J. Clin. Invest.* 1984; v.74, p.1679-85.
80. Jain S., Rajeshwari J., Khullar M., Kumari S. Enalapril acts through release of nitric oxide in patients with essential hypertension. *Renal Failure.* 2001; v.23, n.5, p.651-57.
81. James A.P., Watts G.F., Mamo G.L. The effect of metformin and rosiglitazone on postprandial lipid metabolism in obese insulin-resistant subjects. *Diabetes Obes. Metab.* 2005; v.7, p.381-9.
82. Kadowaki T., Yamauchi T., Kubota N., Hara K., Ueki K., Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* 2006; v.116, p.1784-92.
83. Karlsson H.K.R., Hallsten K., Bjornholm M., Tsuchida H., Chibalin A.V., Virtanen K.A., Heinonen O.J., Lonnqvist F., Nuutila P., Zierath J. Effects of metformin and rosiglitazone treatment on insulin signaling and glucose uptake in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes.* 2005; v.54, p.1459-67.
84. Kato H., Kashiwagi H., Shiraga M., Tadokoro S., Kamae T., Ujiie H., Honda S., Miyata S., Ijiri Y., Yamamoto J., Maeda M., Funahashi T., Murata Y., Shimomura I., Tomiyama Y., Kanakura Y. Adiponectin acts as an endogenous antithrombotic factor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; v.26, p.224-30.
85. Katsuki A., Suematsu M., Gabazza E.C., Murashima S., Nakatani K., Togashi K., Yano Y., Adachi Y., Sumida Y. Increased oxidative stress is associated with decreased circulating levels of adiponectin in Japanese metabolically obese, normal-weight men with normal glucose tolerance. *Diab. Res. Clin. Pract.* Aceptado en Febrero de 2006, se encuentra en edición.
86. Katzung B.G. (2007). Basic and clinical pharmacology, 10 Edt., the Mc Graw Hill Companies, India-Singapore, p.281,566-7,688-9,694-7.
87. Kerenyi Z., Samer H., James R., Yan Y., Stewart M. Combination therapy with rosiglitazone and glibenclamide compared with upward titration of glibenclamide alone in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2004; v.63, p.213-23.

88. Kim M.J., Maachi M., Capeau J., Bastard J.P. Adiponectin and metabolic syndrome. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. 2006; v. 21, p1-7.
89. Kintscher U., Unger T. Vascular protection in diabetes: a pharmacological view angiotensin II type 1 receptor blockers. *Acta Diabetol.* 2005; v.42, p.S26-32.
90. Kobashi C., Urakaze M., Kishida M., Kibayashi E., Kobayashi H., Kihara S., Funahashi T., Takata M., Temaru R., Sato A., Katsuya Y., Nakamura N., Kobayashi M. Adiponectin inhibits endothelial syntesis of interleukin-8. *Circ. Res.* 2005; v.97, p.1245-52.
91. Koh K.K., Han S.H., Quon M.J., Ahn J.Y., Shin E.Y. Beneficial effects of fenofibrate to improve endothelial dysfunction and raise adiponectin levels in patients with primary hypertriglyceridemia. *Diabetes Care.* 2005; v.28, p.1419–24.
92. Koshiha K., Nomura M., Nakaya Y., Ito S. Efficacy of glimepiride on insulin resistance, adipocytokines, and atherosclerosis. *J. Med. Invest.* 2006; v.53, p.87-94.
93. Kotani K., Sakane K., Kurozawa Y. Leptin: adiponectin ratio as an atherosclerotic index in patients with type 2 diabetes: relationship of index to carotid intima-media thickness. *Diabetologia.* 2005; v.48, p.2684-6.
94. Kougias P., Chai H., Lin P.H., Yao Q., Lumsden A.B., Chen Ch. Effects of adipocyte-derived cytokines on endothelial functions: Implications of vascular disease. *J. Surg. Res.* 2005; v.126, p.121-9.
95. Kovacic S., Soltys C.L.M., Barr A.J., Shiojima I., Walsh K., Dyck J. Akt activity negatively regulates phosphorylation of AMP activated protein kinase in the heart. *J. Biol. Chem.* 2003; v.278, p.39422-7.
96. Lafontan M., Viguerie N. Role of adipokines in the control of energy metabolism: focus on adiponectin. *Current Opinion in Pharmacology.* 2006; v.6, p.580–5.
97. Lebovitz H.E., Banerji M.A. Treatment of insulin resistance in diabetes mellitus. *Eur.J. Pharmacol.* 2004; v.490, p.135-146.
98. Li Y.Q., Ji H., Zhang ing D.Y., Ye X.L. Metabolic effects of telmisartan in spontaneously hypertensive rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2006; v.373, p.264-70.
99. Lihn A.S., Bruun J.M., Hea G., Pedersen S.B., Jensen P.F., Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2004; v.219, p.9–15
100. Lihn A.S., Pedersen S.B., Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obesity Reviews.* 2005; v.6, p.13-21.
101. Lo J., Dolan S.E., Kanter J.R., Hemphill L.C., Connelly J.M., Lees R.S., Grinspoon S.K. Effects of obesity, body composition, and adiponectin on carotid intima-media thickness in healthy women. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 2006; v.91, p.1677-82.
102. Ludwing S., Dharmalingam S., Erickson-Nesmith S., Ren S., Zhu F., Ma G.M., Zhao R., Fenton II J.W., Ofosu F.A., te Velthuis H., van Mierlo G., Shen G.X. Impact of simvastatin on hemostatic and fibrinolytic regulators in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin Pract.* 2005; v.70, p.110-8.
103. Maeda N., Shimomura I., Kishida K., Nishizawa H., Matsuda M., Furuyama N., Kondo H., Takahashi M., Arita Y., Komuro R., Ouchi N., Kihara S., Tochino Y., Okutomi K., Horiem., Takeda S., Aoyama T., Funahashi T., Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature Medicine.* 2002;v.8, n.7, p.731-7.
104. Mahmud A., Feely J. Adiponectin and arterial stiffness. *Am. J. Hypertens.* 2005; v.18, p.1543-8.

105. Malendowicz S.L., Ennezat P.V., Testa M., Murray L., Sonnenblick E.H., Todd T., LeJemtel T.H. Angiotensin II receptor subtypes in the skeletal muscle vasculature of patients with severe congestive heart failure. *Circulation*. 2000; v.102, p.2210-3.
106. Manzella D., Grella R., Esposito K., Giugliano D., Barbagallo M., Paolisso G. Blood pressure and cardiac autonomic nervous system in obese type 2 diabetic patients: Effect of metformin administration. *Am. J. Hypertens*. 2004; v.17, p.223-7.
107. Markkola H.V., Jarvinen H.Y. Antihypertensive therapy with enalapril improves glucose storage and insulin dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 1995; v.44, n.1, p.85-9.
108. Marqui na A.R., Rivera D.M., Castellanos G.R., López M.R., Márquez L.P.D, Rodríguez L.M.G. Factores de riesgo asociados a enfermedad vascular periférica en pacientes con diabetes tipo 2. *Rev. Fac. Med. UNAM*. 2003; v.46, p.18-21.
109. Matsuzawa Y. Adiponectin: Identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atherosclerosis*. 2005; suppl.6, p.7-14.
110. Meittinen T.A., Gylling H., Blood glucose and the metabolism of cholesterol in coronary patients with and without simvastatin treatment. *Clin. Chim. Acta*. 2007; v.379, p.53-8.
111. Mitropoulos K.A., Armitage J.M., Collins R., Meade T.W., Reeves B.E.A., Wallendszus K.R., Willson S.S., Lawson A., Peto R. Randomized placebo-controlled study of the effects of simvastatin on haemostatic variables, lipoproteins and free fatty acids. *Eur. Heart J*. 1997; v.18, p.235-41.
112. Mohlig M., Freudenberg M., Bobbert T., Ristow M., Rochlitz H., Weickert M.O., Pfeiffer A.F.H., Spranger J. Acetylsalicylic acid improves lipid-induced insulin resistance in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2006; v.91, p.964-7.
113. Mollace V., Muscoli C., Masini E., Cuzzocrea S., Salvemini D. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacol Rev*. 2005; v.57, p.217-52.
114. Mombouli J.V., Vanhoutte P.M. Heterogeneity of endothelium-dependent vasodilator effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors: role of bradykinin generation during ACE inhibition. *J. Cardiovasc. Pharmacol*. 1992; 20 (Suppl 9), p.S74-82.
115. Moriuchi K., Yamasaki H., Shimamura M., Kita A., Kuwahara H., Fujishima K., Satoh T., Fukushima K., Fukushima T., Hayakawa T., Mizuguchi H., Nagayama Y., Abiru N., Kawasaki E., Eguchi K. Induction of human adiponectin gene transcription by telmisartan, angiotensin receptor blocker, independently on PPAR $\gamma$  activation. *Biochem. Biophys. Res. Común*. 2007; v.356, p.1024-30.
116. Müller G., Wied S., Wetekam E., Creelius A., Unkelbach A., Punter J. Stimulation of glucose utilization in 3T3 adipocytes and rat diaphragm in vitro by the sulphonylureas, glimepiride and glibenclamide, is correlated with modulations of the cAMP regulatory cascade. *Biochem. Pharmacol*. 1994; v.48, n.5, p.985-96.
- 117.
118. Muntoni S. Metformin and fatty acids. *Diabetes Care*. 1999; v.22, p.179
119. Muntoni S. Metformin and fatty acids. *Diabetes Care*. 2006; v.29, p.751-2.
120. Murohara T., Horowitz J.R., Silver M., Tsurumi Y., , Chen D., Sullivan A., Isner J.M. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor



- enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation*. 1998; v.97, 99–107.
121. Musso G., Gambino R., Durazzo M., Biroli G., Carello M., Fagà E., Picini G., De Michieli F., Ribbione L., Premoli A., Cassader M., Pagano G. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology*. 2005; v.42, p.1175-83.
  122. Nakamura Y., Shimada K., Fukuda D., Shimada Y., Ehara S., Hirose M., Kataoka T., Kamimori K., Shimodozono S., Kobayashi Y., Yoshiyama M., Takeuchi K., Yoshikawa J. Implications of plasma concentrations of adiponectin in patients with coronary artery disease. *Heart*. 2004; v.90, p.528–33.
  123. Natali A., Baldeweg S., Toschi E., Capaldo B., Barbaro D., Gastaldelli A., Yudkin J.S., Ferrannini E. Vascular effects of improving metabolic control with metformin or rosiglitazone in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; v.27, p.1349-57.
  124. Negro R., Hassan H. The effects of telmisartan and amlodipino on metabolic parameters and blood pressure in type 2 diabetic, hypertensive patients. *JRAAS*. 2007; v.7, p.243-6. (*Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*)
  125. Newman R.J. Comparison of propranolol, metoprolol, and acebutolol on insulin-induced hypoglycaemia. *British Medical Journal*. 1976; v.2, p.447-9.
  126. Newman R.J. Comparison of the antilipolytic effect of metoprolol, acebutolol, and propranolol in man. *British Medical Journal*. 1977; v.2, p.601-3.
  127. Nissen S.E. and Wolsky K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N. Engl. J. Med.* 2007; v.356, p.1-15.
  128. Ohira M., Miyashita Y., Ebisuno M., Saiki A., Endo K., Koide N., Oyama T., Murano T., Watanabe H., Shirai K. Effect of metformin on serum lipoprotein lipase mass levels and LDL particle size in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2007; v.78, p.34-41.
  129. Organization for Economic Cooperation and Development OECD. Guideline For Testing Of Chemicals. Revised Draft Guideline 420 : Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure- October 2000.
  130. Organization for Economic Cooperation and Development. OECD - Draft Guidance Document On Acute Oral Toxicity Testing No 24 Paris February 2001.
  131. Ouchi N., Kihara S., Funahashi T., Nakamura T., Nishida M., Kumada M., Okamoto Y., Ohashi K., Nagaretani H., Kishida K., Nishizawa H., Maeda N., Kobayashi H., Hiraoka H., Matsuzawa Y. Reciprocal association of c-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*. 2003; v.107, p.671-4.
  132. Ouchi N., Ohishi M., Kihara S., Funahashi T., Nakamura T., Nagaretani H., Kumada M., Ohashi K., Okamoto Y., Nishizawa H., Kishida K., Maeda N., Nagasawa A., Kobayashi H., Hiraoka H., Komai N., Kaibe M., Rakugi H., Ogihara T., Matsuzawa Y. Association of Hypoadiponectinemia with Impaired Vasoreactivity. *Hypertension*. 2003; v.42, p.231-4.
  133. Ouchi N.; Kihara S., Arita Y., Okamoto Y., Maeda K., Kuriyama H., Hotta K., Nishida M., Takahashi M., Muraguchi M., Ohmoto Y., Nakamura T., Yamashita S., Funahashi T., Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- $\kappa$ B signaling through a camp-dependent pathway. *Circulation*. 2000; v.102, p.1296-1301.
  134. Pfisterer M., Buser P., Osswald S., Allemann U., Amann W., Angehrn W., Eeckhout E., Erne P., Estlinbaum W., Kuster G., Moccetti T., Naegeli B.,

- Rickenbacher P. Outcome of elderly patients with chronic symptomatic coronary artery disease with an invasive vs optimized medical treatment strateg. *JAMA*. 2003; v.289, p.1117- 23.
135. Phillips S.A, Ciaraldi T.P., Kong P.S., Bandukwala R., Aroda V., Carter L., Baxi S., Mudaliar S.R., Henry R.R. Modulation of Circulating and Adipose Tissue Adiponectin Levels by Antidiabetic Therapy. *Diabetes*. 2003; v.52, p.667–74.
136. Psaty B.C. and Furberg C.D. Rosiglitazone and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med*. 2007; v.356, Editorial, p.1-3.
137. Putz D.M., Goldner M.S., Bar R.S., Haynes W.G., Sivitz W.I. Adiponectin and C-reactive protein in obesity, type 2 diabetes, and monodrug therapy. *Metabolism*. 2004; v.53, n.11, p.1454-61.
138. Quilley J. Insulin resistance, oxidative stress and aspirin: therapeutic implications? *J. Hypertens*. 2002; v.20, p.1279–81.
139. Ramires J.A.F., Vianna C.B. Dor torácica em pacientes com cinecoronariografia normal (síndrome X): novos conceitos. *Rev. Ass. Méd. Brasil*. 1998, v.44, n.3, p.229-38.
140. Ran T., He J., Jiang H., Zu L., Pu S., Guo X., Xu G. Metformin reduces lipolysis in primary rat adipocytes stimulated by tumor necrosis factor- $\alpha$  or isoproterenol. *J. Mol. Endocrinol*. 2006; v.37, p.175-83.
141. Rasouli N., Yao-Borengasser A., Miles L.M., Elbein S.C., Kern P.A. Increased plasm adiponectin in response to pioglitazone does not result from increased gene expression. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2006; v.290, p.E42-6.
142. Rohifing J.J., Brunzell J.D. The effects of diuretics and adrenergic-blocking agents on plasma lipids. *West. J. Med*. 1986; v.145, p.210-8.
143. Sandstrom PE., Sehlin J. Furosemide-induced glucose intolerance in mice is associated with reduced insulin secretion. *Eur. J. Pharmacol*. 1988; v.147, p.403-9.
144. Sasaki J., Iwashita M., Kono S. Statins: Beneficial or adverse for glucosa metabolism. *J. Atheroscler. Thromb*. 2006; v.13, n.3 p.123-9.
145. Schramm T., Rost R.E., Bjsrnason-Wehrena B., Seebach A., Predel H.G. Integrated cardio-pulmonary and metabolic effects the Ca channel antagonist (CAA) amlodipine in physically active patients with essential hypertension. *Am. J. Hypertens*. 1997; v.10, n.4, Part 2.
146. Schulze M.B., Rimm E.B., Shai I., Rifai N., Hu F.B. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; V.27, p.1680–7.
147. Senn J.J., Klover P.J., Nowak I.A., Mooney R.A. Interleukin-6 Induces Cellular Insulin Resistance in Hepatocytes. *Diabetes*. 2002; v.51, p.3391–9.
148. Seufert J., Lubben G., Dietrich K., Bates P.C. A comparison of the effects of thiazolidinediones and metformin on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin. Ther*. 2004; v.26, p.805-18.
149. Sharma P.K., Bhansali A., Sialy R., Malhotra S., Pandhi P. Effects of pioglitazone and metformin on plasma adiponectin in newly detected type 2 diabetes mellitus. *Clin. Endocrinol*. 2006; v.65, p.722-8.
150. Shi H., Moustaid-Mousa N., Wilkison W.O., Zemel M.B. Role of the sulfonylurea receptor in regulating human adipocyte metabolism. *FASEB J*. 1999; v.13, p.1833-8.

151. Shimabukuro M., Higa N., Asahi T., Oshiro Y., Takasu N., Tagawa T., Ueda S., Shimomura I., Funahashi T., Matsuzawa Y. Hhypo adiponectionemia is closely linked to endothelial dysfunction in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; v.88, p.3236-40.
152. Skrapar i I., Perrea D., Ioannidis I., Carabina S.A.P., Elisaf M., Tselepi A.D., Karagiannacos P., Katsilambros N. Glibenclamide improves postprandial hypertriglyceridaemia in type 2 diabetic patients by reducing chylomicrons but not the very low-density lipoprotein subfraction levels. *Diabet. Med.* 2001; v.18, p.781-5.
153. Smith F.G., Sener A., Hyland P. Chronic furosemide treatment alters renal responses to furosemide in conscious lambs. *Pediatr. Nephrol.* 2000; v.14, p.916-21.
154. Staiger K., Stefan N., Staiger H., Brendel M.D., Brandhorst D., Bretzel R.G., Machicao F., Kellerer M., Stumvoll M., Fritche A., Häring H.U. Adiponectin is functionally active in human islets but does not affect insulin secretor function or  $\beta$ -cell lipoapoptosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; v.90, p6707-13.
155. Strazzullo P., Galletti F. Impact of the renin-angiotensin system on lipid and carbohydrate metabolism. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* 2004; v.13, p.325-32.
156. Stump C.S., Hamilton M.T., Sowers J.R. Effect of antihypertensive agents on the development of type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clin. Proc.* 2006; v.81, n.6, p.796-806.
157. Tan K.C.B., Xu A., Chow W.S., Lam M.C.W., Ai V.H.G., Tam S.C.F., Lam K.S.L. Hhypo adiponectionemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; v.89, p.765-9.
158. Tawfik H.E., El-Reemssy A.B., Matragoon S., Ma G., Caldwell R.B., Caldwell W. Simvastatin improves diabetes-induced coronary endothelial dysfunction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; v.319, p.386-95.
159. Teranishi T., Ohara T., Maeda K., Zenibayashi M., Kuoyama K., Hirota Y., Kawamitsu H., Fujii M., Sugimura K., Kasuga M. Effects of pioglitazone and metformin on intracellular lipid content in liver and skeletal muscle of individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metab. Clin. Exp.* 2007; v.56, p.1418-24.
160. Tiikainen M., Hakkinen A.M., Korshennikova E., Nyman T., Makimattila S., Yki-Jarvinen H.R. Effects of rosiglitazone and metformin on liver fat content, hepatic insulin resistance, insulin clearance, and gene expression in adipose tissue in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004; v.53, p.2169-76.
161. Tilg H. y Moschen A.R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature.* 2006; v.6, p.772-83.
162. Tobacova S. Mode of action: angiotensin converting enzyme inhibition – Development effects associate with exposure to ACE inhibitors. *Critical Reviews in Toxicology.* 2005; v.35, p. 747-55.
163. Tsatsanis C., Zacharioudaki V., Androulidaki A., Dermitzaki E., Charalampopoulos I., Minas V., Gravanis A., Margioris A.N. Adiponectin induces TNF- $\alpha$  and IL-6 in macrophages and promotes tolerance to itself and other pro-inflammatory stimuli. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005, v.335, p.1254-63.
164. Vásquez A.V., Cruz N.M.C., Vásquez A.C., Millán A.P. Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina en el tratamiento de la hipertensión arterial. *Rev. Cubana Farm.* 1998; v.32, n.3, p.204-10.

165. Vasseur F. Adiponectin and its receptors: Partners contributing to the “vicious circle” leading to the metabolic syndrome? *Pharmacological Research*. 2006; v.53, p.478-81.
166. Vergès B, Petit J.M., Duvillard L., Dautin G., Florentin E., Galland F, Gembert P. Adiponectin is an important determinant of ApoA-I catabolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* Aceptado en Marzo de 2006, se encuentra en edición.
167. Von Eynatten M., Hamann A., Twardella D., Nawroth P.P., Brenner H., Rothenbacher D. Relationship of adiponectin with markers of systemic inflammation, atherogenic dyslipidemia, and heart failure in patients with coronary heart disease. *Clin. Chem.* 2006; v.52, n.5, p.853-9.
168. Waal-Manning H.J., Simpson F.O. Beta-blockers and lipid metabolism. *British Medical Journal*. 1977; v.2, p.705.
169. Wang P., Renes J., Bouwman F., Brunschoten A., Mariman E., Keijzer J. Absence of an adipogenic effect of rosiglitazone on mature 3T3-L1 adipocytes: Increase of lipid catabolism and reduction of adipokine expression. *Diabetologia*. 2007; v.50, p.654-65.
170. Wolf R., Berger P., Lennon R.J., Brilakis E.S., Davison D.E., Somers V.K., Association between plasma adiponectin levels and unstable coronary syndromes. *Eur. Heart J.* 2007; v.28, 292-8.
171. Woods K.L., Wright A.D., Kendall M.J., Black E. Lack of effect of propranolol and metoprolol on glucose tolerance in maturity-onset diabetics. *British Medical Journal*. 1980; v.281, p.1321.
172. Xu B., Makris A., Thornton C., Ogleb R., Horvath J.S., Hennessy A. Antihypertensive drugs clonidine, diazoxide, hydralazine and furosemide regulate the production of cytokines by placentas and peripheral blood mononuclear cells in normal pregnancy. *J. Hypertens.* 2006; v.24, p.915–22.
173. Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizok T., Kita S., Sugiyama T., Miyagishi M., Hara K., Tsunoda M., Murakami K., Ohteki T., Uchida S., Takekawa S., Waki H., Tsuno N.H., Shibata Y., Terauchi Y., Froguel P., Tobe K., Koyasu S., Taira K., Kitamura T., Shimizuk T., Nagai R., Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003, v.423, p.762-9.
174. Yamauchi T., Kamon J., Waki H., Imai Y., Shimozawa N, Hioki K., Uchida S., Ito Y., Takakuwa K, Matsui J., Takata M., Eto K., Terauchi Y, Komeda K., Tsunoda M, Murakami K., Ohnishi Y., Naitoh T, Yamamura K., Ueyama Y., Froguel P., Kimura S., Nagai R., Kadowaki T. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and apoe-deficient mice from atherosclerosis. *J. Biol. Chem.* 2003; v. 278, n. 4, p. 2461–8.
175. Yamauchi T., Kamon J., Waki H., Terauchi Y., Kubota N., Hara K., Mori Y., Ide T., Murakami K., Tsuboyama-Kasaoka N., Ezaki O., Akanuma Y., Gavrilova O., Vinson C., Reitman M.L., Kagechika H., Shudo K., Yoda M., Nakano Y., Tobe K., Nagai R., Kimura S., Tomita M., Frogue P., Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature Medicine*. 2001; v.7, n.8, p.941-6.
176. Yilmaz M.I., Sonmez A., Caglar K., Celik T., Yenicesu M., Eyiletten T., Acikel C., Oguz Y., Yavuz I., Vural A.. Effect of antihypertensive agents on plasma adiponectin levels in hypertensive patients with metabolic syndrome. *Nephrology*. 2007; v.12, p.147–153.

177. Yin W.H., Jen H.L., Chen J.W., Lin S.J., Young M.S. Differential effects of peroxisome proliferator-activated receptor ligands and sulfonylurea plus statin treatment on plasma concentrations of adipokines in type 2 diabetes with dyslipidemia. *Diabetes Metab.* 2006; v.32, p.229-35.
178. Yukiko K., Masafumi M., Kazuhito T., Fumiko K., Mitsuru H., Michihiro M., Kohei K. Effects of sulfonylurea drugs on adiponectin production from 3T3-L1. *Diabetes Res Clin. Pract.* 2008; v.81, n.1, p.13-18.
179. Zhou H., Song X., Briggs M., Violand B., Salsgiver W., Gulve E.A., Luo Y. Adiponectin represses gluconeogenesis independent of insulin hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; v.338, p.793-9.