



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDOCRINOLOGÍA Y
ENFERMEDADES METABÓLICAS
HOSPITAL MILITAR "DR. CARLOS ARVELO"

**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ÓXIDO NÍTRICO EN
PACIENTES DIABÉTICOS Y SU CORRELACIÓN CON EL PERFIL LIPÍDICO**
Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al título de Especialista en
Endocrinología y Enfermedades Metabólicas

María Emilia Hernández

Tutor: Sara Camila Brito de González

Caracas, marzo 2019

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

FECHA: 25 DE MARZO 2019

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

Nosotros María Emilia Hernandez, autor(es) del trabajo "Evaluación de los niveles séricos de óxido nítrico en pacientes diabéticos y su correlación con el perfil lipídico"

Presentado para optar: al título de Especialista en Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

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

<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Si autorizo</i>
<input type="checkbox"/>	<i>Autorizo después de 1 año</i>
<input type="checkbox"/>	<i>No autorizo</i>
<input type="checkbox"/>	<i>Autorizo difundir sólo algunas partes del trabajo</i>
<i>Indique:</i>	

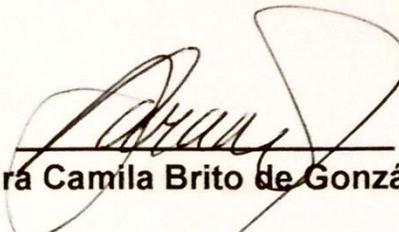
Firma(s) autor (es)

C.I. N° 10.622.374

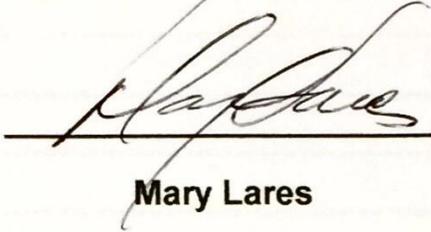
e-mail: mehhdem@hotmail.com

En Caracas, a los 25 días del mes de marzo de 2019

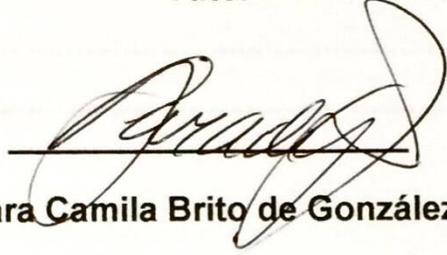
Nota: En caso de no autorizarse la Escuela o Comisión de Estudios de Postgrado, publicará: la referencia bibliográfica, tabla de contenido (índice) y un resumen descriptivo, palabras clave y se indicará que el autor decidió no autorizar el acceso al documento a texto completo.
La cesión de derechos de difusión electrónica, no es cesión de los derechos de autor, porque este es intransferible.

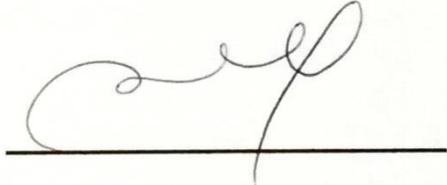

Sara Camila Brito de González

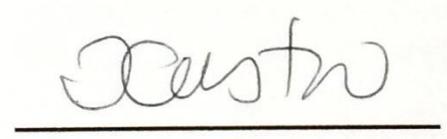
Tutor


Mary Lares

Tutor


Sara Camila Brito de González
Director del curso de postgrado


María Gabriela Mena
Coordinador del curso de postgrado


Jorge Castro
Asesor Estadístico

Índice

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MÉTODOS.....	22
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	28
REFERENCIAS	30
ANEXOS	33

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES DIABÉTICOS Y SU CORRELACIÓN CON EL PERFIL LIPÍDICO

María Emilia Hernández, C.I.10.622.374. Sexo: Femenino, Email: Teléfono: 0414-478633. Dirección: Curso de Especialización de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

Tutor: Sara Brito de González, CI: 4.557.468. Sexo: Femenino, E-mail: sarafindel@hotmail.com. Teléfono: 0416-7155519. Dirección: Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo. Avenida José Ángel Lamas. Caracas. Jefe del departamento de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas

RESUMEN

La diabetes mellitus es un desorden metabólico con gran incidencia mundial y asociada a graves complicaciones cardiovasculares. La disfunción del endotelio vascular se considera un factor importante en la patogénesis de las complicaciones vasculares diabéticas y de los niveles lipídicos, donde la disminución del óxido nítrico ejerce un rol determinante en el desarrollo de esta disfunción. **Objetivo:** Evaluación de los niveles séricos de óxido nítrico en pacientes diabéticos y su correlación con el perfil lipídico. **Métodos:** Estudio descriptivo analítico y transversal, en 72 sujetos adultos de uno u otro sexo, distribuidos en tres grupos: Grupo 1 (n=22) Diabéticos tipo 2 con dislipidemia; Grupo 2 (n=25) Diabéticos tipo 2 sin dislipidemia y Grupo 3 (n=25) Controles sanos. Se determinaron parámetros antropométricos, tensión arterial, glucemia basal, perfil lipídico, hemoglobina glicosilada y óxido nítrico. **Resultados:** Los niveles de óxido nítrico fueron significativamente menores en los pacientes diabéticos versus los controles ($p < 0,01$), siendo más bajo en diabéticos con dislipidemias ($11,77 \pm 0,49$), sin diferencias significativas ($p = 0,23$) con los diabéticos no dislipidémicos ($12,57 \pm 0,40$). El óxido nítrico se correlacionó de manera negativa con la edad de los individuos ($p < 0,01$), peso ($p < 0,01$), IMC ($p < 0,01$), circunferencia de cintura ($p < 0,01$), presión arterial sistólica ($p < 0,01$), colesterol total ($p < 0,01$), LDL-colesterol ($p < 0,01$), glicemia ($p < 0,01$) y HbA1c ($p = 0,01$) **Conclusión:** La disminución de los niveles de óxido nítrico es un factor determinante en la disfunción endotelial presente en la diabetes mellitus y sus complicaciones.

PALABRAS CLAVE: diabetes mellitus 2, óxido nítrico, estrés oxidativo, dislipidemia

EVALUATION OF THE SERUM LEVELS OF NITRIC OXIDE IN DIABETIC PATIENTS AND THEIR CORRELATION WITH THE LIPID PROFILE

A B S T R A C T

Diabetes mellitus is a metabolic disorder with great worldwide incidence and associated with serious cardiovascular complications. Vascular endothelium dysfunction is considered an important factor in the pathogenesis of diabetic vascular complications and lipid levels, where the decrease in nitric oxide plays a decisive role in the development of this dysfunction. Objective: Evaluation of serum levels of nitric oxide in diabetic patients and its correlation with the lipid profile. Methods: Analytical and transversal descriptive study in 72 adult subjects of one sex or the other, divided into three groups: Group 1 (n = 22) Type 2 diabetics with dyslipidemia; Group 2 (n = 25) Type 2 diabetics without dyslipidemia and Group 3 (n = 25) Healthy controls. Anthropometric parameters, blood pressure, basal glycemia, lipid profile, glycosylated hemoglobin and nitric oxide were determined. Results: Nitric oxide levels were significantly lower in diabetic patients versus controls ($p < 0.01$), being lower in diabetics with dyslipidemias (11.77 ± 0.49), without significant differences ($p = 0, 23$) with non-dyslipidemic diabetics (12.57 ± 0.40). Nitric oxide correlated negatively with the age of the individuals ($p < 0.01$), weight ($p < 0.01$), BMI ($p < 0.01$), waist circumference ($p < 0.01$), systolic blood pressure ($p < 0.01$), total cholesterol ($p < 0.01$), LDL-cholesterol ($p < 0.01$), glycemia ($p < 0.01$) and HbA1c ($p = 0.01$) Conclusion: The decrease in nitric oxide levels is a determining factor in the endothelial dysfunction present in diabetes mellitus and its complications.

KEY WORDS: diabetes mellitus 2, nitric oxide, oxidative stress, dyslipidemia

INTRODUCCIÓN

Desde el aspecto clínico y genético, la diabetes mellitus (DM) constituye un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos de carácter crónico, caracterizados por una concentración anormal elevada de glucosa en sangre. Las causas de la hiperglucemia son deficiencia en la secreción de insulina o resistencia de las células del cuerpo a la acción de ésta. A menudo ocurren alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono, grasas y proteínas, como resultado del defecto de la secreción de insulina, acción de insulina o ambas ⁽¹⁾.

Por sus consecuencias, se sitúa como una de las principales causas de morbimortalidad de las sociedades desarrolladas o en vías de desarrollo. Afecta a gran número de personas, con aumento acelerado de la prevalencia de DM tipo 1 y “explosivo” de DM tipo 2; esto último, lo relaciona la Organización Mundial de la Salud (OMS) con el crecimiento y envejecimiento de la población, el incremento de la obesidad, hábitos erróneos de la alimentación y modos de vida sedentarios. Todo esto implica un problema personal y de salud pública de enormes proporciones ⁽²⁾. Algunos estudios realizados por epidemiólogos han descritos que tanto la DM tipo 1 como la 2 son patologías complicadas y desventajosas con respecto a sus complicaciones tardías, ya que los pacientes diabéticos en comparación a otros presentan 25 veces más posibilidades de quedarse ciegos, 20 veces más de tener problemas renales, así como riesgo de sufrir amputaciones por gangrena y de 2-6 veces más de desarrollar daños isquémicos en coronarias y cerebro. Aquellas personas que se diagnostican con esta patología antes de los 30 años de edad, y no llevan un buen control, usualmente tienen graves complicaciones o no llegan a los 50, la mayoría por problemas cardiovasculares y renales ⁽³⁾.

Otros estudios arrojan evidencias de que la DM es la responsable del 80 por ciento de las muertes por aterosclerosis coronaria, cuya complicación, se presenta con una frecuencia entre dos y cuatro veces más en esta población ⁽⁴⁾.

Las causas más frecuentes de muerte en la DM son por complicaciones cardiovasculares prematuras, cerebrovasculares y falla renal ⁽⁴⁾. Esto se debe principalmente a la poca o nula conciencia que existe por parte de los pacientes de disciplinarse en sus hábitos alimentarios, así como el de medicarse bajo vigilancia médica con el fin de mantener un control adecuado de glucosa sanguínea. Debido a estos factores, los diabéticos mal controlados se condicionan a padecer las múltiples complicaciones que se presentan de forma prematura por la hiperglucemia, lo que origina disminución drástica de su calidad de vida.

Además de que tanto para las instituciones empresariales como de salud, implica grandes pérdidas económicas debido a las constantes solicitudes de incapacidad que se expiden para estos pacientes ⁽⁵⁾.

Se ha descrito que la DM está asociada con las reacciones oxidativas catalizadas por la transición de metales descompartmentalizados ⁽³⁾. Esta serie de hallazgos concuerdan con estudios que presentan considerables evidencias en las que se sugiere que el estrés oxidativo (EOx) juega un importante papel en la patogénesis y complicaciones de la DM ⁽⁶⁻⁸⁾. Los mecanismos que pueden contribuir al aumento de dicho estrés en pacientes diabéticos son muchos y diferentes, en particular en aquellos sujetos con pobre control de la glicemia.

Estos mecanismos que participan en la formación de radicales libres (RL) en diabéticos no solamente incluyen el incremento de la glucosilación no enzimática y la auto-oxidación, sino que también al estrés metabólico, que es el resultado de cambios en la energía del metabolismo, en el nivel de los mediadores de la inflamación y en el estado del sistema antioxidante de defensa ⁽⁹⁾.

Se han planteado varias teorías sobre porque el estrés oxidativo daña los tejidos en diabéticos, sin embargo, los mecanismos que involucran el estado oxidativo en la DM aún no están completamente esclarecidos. Las evidencias acumuladas indican que el incremento en la producción de RL, como el ión superóxido o reducción del estatus antioxidante, juegan un importante papel para que se presente el estrés oxidativo (EOx). Estos mecanismos incluyen a su vez la glucooxidación y la formación de

productos avanzados de glucosilación, activación de la vía de los polioles, inactivación de las enzimas antioxidantes, del metabolismo del ascorbato y descontrol en el metabolismo del óxido nítrico (ON) y de las prostaglandinas. Se conoce que el EOx puede aumentar la producción de superóxido, los cuales llevan a la formación del prooxidante peroxinitrito (ONOO^-). Este compuesto es un potente oxidante capaz de oxidar a las lipoproteínas de baja densidad y por ende, causar disfunción vascular al actuar sobre los residuos de tirosina de las proteínas ⁽¹⁰⁾.

Existen evidencias de que la hiperglucemia estimula la producción de RL, con activación del factor de necrosis Kappa beta (NF-Kappabeta) y la proteinquinasa-C. Ello aumenta la formación de productos finales de glucosilación intracelulares y la acumulación de sorbitol. Los RL, junto con el NF-kappabeta, alteran el cociente de óxido-reducción de la célula, con caída del NADPH oxidasa. Esto se puede revertir por las estatinas, los antagonistas de la enzima convertidora y los bloqueadores de los receptores de angiotensina. La alteración del cociente óxido-reducción de la célula ocasiona anoxia, con disminución del ON, e incremento de los ONOO^- ⁽¹¹⁾. Lo que activa las citoquinas inflamatorias y daña al ADN y al endotelio, lo que provoca complicaciones micro y macrovasculares en la diabetes. Así también, la reducción de la expresión de los GLUT 4, que conduce a la insulinoresistencia y al bloqueo de la beta oxidación.

Estas alteraciones del estrés oxidativo desempeñan un papel importante en el desarrollo de complicaciones crónicas de la diabetes sobre todo por la influencia que tienen sobre la función endotelial

El concepto de disfunción endotelial implica un daño funcional, el cual puede evolucionar hacia estructural, si bien en otras literaturas se considera como un trastorno en el cual este pierde sus propiedades fisiológicas: la tendencia a favorecer la vasodilatación, la fibrinólisis y la anti agregación ⁽¹²⁾.

Planteamiento y delimitación del problema

La diabetes mellitus es un desorden metabólico con gran incidencia mundial, del que se ha registrado un incremento en la última década en Latinoamérica y Venezuela, como lo demuestran Schargrotsky et al. ⁽¹⁾ en su trabajo sobre «Factores de Riesgo Cardiovascular en América Latina» (Estudio CARMELA), donde alcanza una prevalencia del 7% en general, si bien al analizar solo la información recolectada en Barquisimeto, del mismo grupo de investigación, se obtiene una prevalencia del 6%⁽¹⁾.

El problema no solo está en la prevalencia de la enfermedad sino en el alto número de pacientes que viven con la patología y que están fuera de las metas de control para hemoglobina glicosilada (HbA1c), como se expresa en el trabajo de Moreira et al. donde el promedio de la HbA1c en 4.096 pacientes con diabetes fue de 9,11% en Venezuela ⁽¹³⁾, hecho que aporta una perspectiva de cómo puede influir la diabetes mellitus en el incremento de la morbimortalidad por enfermedades cardiovasculares ya que no son solo factores de riesgo la hipertensión o dislipidemia, sino también el desorden hidrocarbonado y los pacientes muy por fuera de las metas establecidas por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD) del 2012⁽¹⁴⁾.

La diabetes no es solo un trastorno hidrocarbonado, pues también se conoce como un estado de estrés oxidativo ⁽³⁾, en el que se da un desbalance entre la formación excesiva y la remoción insuficiente de moléculas altamente reactivas como las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS). El estrés oxidativo ejerce un rol determinante en el desarrollo de complicaciones de la diabetes mellitus. La actividad excesiva de oxidante está mecánicamente relacionada con diversas etiologías de la resistencia a la insulina y el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2⁽¹⁵⁾. Hay muchas fuentes de estrés oxidativo en diabetes mellitus, incluida la enzimática, las vías no enzimáticas y la mitocondrial. El aumento de estrés oxidativo en la diabetes mellitus se produce debido a diversos factores. El factor más dominante es la glucosa, autooxidación que resulta en el desarrollo de los radicales libres ⁽¹⁶⁾. La diabetes mellitus también se caracteriza por complicaciones, tales como retinopatía, nefropatía y neuropatía. Varios estudios demuestran que la neutralización de moléculas

reactivas ha sido capaz desinhibir significativamente el desarrollo de disfunción endotelial, miocardiopatía, retinopatía, nefropatía y neuropatía en pacientes con diabetes mellitus ⁽¹⁷⁾.

La disfunción del endotelio vascular se considera un factor importante en la patogénesis de las complicaciones vasculares diabéticas y se está demostrando que proviene de la hiperglucemia. El endotelio es un tejido funcionalmente complejo, productor de múltiples agentes que actúan en forma endocrina, paracrina y autocrina que afectan la vasoregulación, proliferación de células del músculo liso vascular, agregación plaquetaria y adhesión de monocitos. La vasoregulación ocurre como resultado de un equilibrio entre la liberación de factores relajadores y constrictores. El factor relajador predominante es el óxido nítrico ON, sintetizado desde L-arginina a través del sistema de enzimas conocido como óxido nítrico sintasas (NOS) que convierte L-arginina y oxígeno en ON y L-citrulina. Además de su rol vasodilatador, el ON (entre otras funciones) es un inhibidor de crecimiento y migración celular, de la expresión de moléculas pro inflamatorias y de adhesión.

En vista del número creciente de casos de diabetes en nuestro país y los escasos trabajos para dilucidar la etiopatogenia de sus complicaciones y la posibilidad de que esto permita actuar en su prevención, nos motivó a realizar este trabajo

Por lo antes expuesto se quiere saber ¿Cuáles son los niveles séricos de óxido nítrico en los pacientes diabéticos y su correlación con el perfil lipídico?

Se pretende con este estudio evaluar la disfunción endotelial en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que asisten a la consulta de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del Hospital Militar Doctor "Carlos Arvelo".

Justificación e Importancia

La disfunción endotelial (DE) es la serie de alteraciones que afectan la síntesis, la liberación, la difusión o la degradación de los factores que se sintetizan por el endotelio. En otra definición, se reconoce a la DE como la pérdida de la capacidad del endotelio de modular las funciones fisiológicas del lecho vascular. Los mecanismos responsables de estas alteraciones pueden originarse tanto por cambios en los receptores como de las señales intracelulares de transducción, o, incluso, por modificaciones en la respuesta de las células diana a los factores producidos por las células endoteliales. La DE no es homogénea en sus características ni en su distribución, estos aspectos varían en dependencia de la enfermedad que esté presente, así como del lecho vascular afectado ⁽¹⁸⁾.

El óxido nítrico (ON), es un factor con capacidad vaso relajante, derivado del endotelio que se considera en la actualidad una de las sustancias más importantes producidas por la célula endotelial, se forma por medio de la conversión metabólica de la L-arginina en la L-citrulina, reacción que es catalizada por la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (e NOS), y constituye el compuesto vasodilatador natural más importante del organismo. ⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Nuestros pacientes diabéticos acuden continuamente a la consulta, ya con graves complicaciones crónicas que deterioran su calidad de vida, el conocer la fisiopatología y todos los factores que contribuyen a la aparición de estas, nos ayudara a lograr la reducción de estas.

Antecedentes

Seiko Miyata et al 2017. Realizaron un estudio donde investigaron la relación entre ON y factores de riesgo para enfermedades relacionadas con el estilo de vida en trabajadores de una fábrica .Incluyó 877 obreros de fábrica presentando Hipertensión, dislipidemia y diabetes tipo 2. Se midieron las concentraciones plasmáticas de formas oxidadas de ON, NO₂- / NO₃- (ONx) utilizando un método colorimétrico. Los pacientes

fueron un numero significativamente mayor que los controles. El análisis de regresión múltiple reveló que el colesterol LDL era un factor de riesgo independiente para reducir las concentraciones plasmáticas de ON. Las concentraciones más bajas de ONx en plasma se encontraron en pacientes con diabetes tipo 2 en comparación con aquellos con los niveles plasmáticos más altos de ONx (odds ratio [OR] [intervalo de confianza del 95%; CI] = 3.65 [1.61–8.28]; $p = 0.002$; 2.67 [1.15–6.20]; $p = 0.022$, y 3.27 [1.43–7.48]; $P = 0.005$). Los sujetos con los niveles más bajos de ONx en plasma presentaban más dislipidemia (OR [IC del 95%] = 1.69 [1.13–2.53]; $p = 0,01$), los resultados demostraron que los niveles plasmáticos de ONx son más bajos en la hipertensión, dislipidemia, diabetes tipo 2 y comorbilidades de tales enfermedades. Fueron significativamente más bajos que los controles. Ellos concluyen que el óxido nítrico (ON) juega un papel clave en la regulación del tono vascular y es conocido como uno de los marcadores clave de disfunción endotelial⁽²²⁾

Sanyucta Mishra S et al 2017. Evaluaron el estrés oxidativo, el ON y los oligoelementos zinc (Zn) y magnesio (Mg) en DM tipo 2 y correlacionaron estos parámetros con el proceso de la enfermedad. Noventa y dos casos con diabetes se incluyeron en el estudio, de los cuales 51 eran DM tipo 2 sin ninguna complicación, 41 fueron DM tipo 2 con complicaciones y 51 controles no diabéticos sanos del hospital. Las muestras de sangre se recogieron después de un ayuno durante la noche para la estimación de glucosa plasmática en ayunas, glucosa postprandial, hemoglobina glicosilada (HbA1c), perfil lipídico, oligoelemento, malonilaldehído (MDA) y ON. Resultados: el estudio reveló un aumento en los niveles de MDA en ambos con y sin complicaciones con diabetes (2.47 ± 0.53 , 3.98 ± 0.42 nmol / ml, respectivamente) en comparación a los controles ($1,43 \pm 0,23$ nmol / ml), que fue estadísticamente significativo ($P < 0,05$). Los niveles de NO, Zn y Mg fueron significativamente más bajos en ambos grupos diabéticos que en el control grupo ($p < 0,05$). El MDA mostró una correlación positiva significativa con la glucosa plasmática, perfil lipídico, excepto el colesterol de lipoproteínas de alta densidad) y una correlación negativa significativa con Zn ($r = -0.44$, $P < 0.05$) y Mg ($r = -0.31$, $P < 0.05$). Los niveles de NO se correlacionaron significativamente con glucosa plasmática, dislipidemia y HbA1c ($P < 0,05$). Las concentraciones de elementos fueron evidentes a partir de una correlación negativa

significativa entre Zn y Mg con Glucosa plasmática en ayunas y HbA1c. Conclusión: los hallazgos del presente estudio pueden establecer el papel de hiperglucemia, estrés oxidativo, ON alterado y oligoelementos en la patogénesis de la diabetes a largo plazo.
(23)

Sanjeev Kumar et al 2016. Realizaron un estudio en el Departamento de Medicine, LLRM Medical College, Meerut, Uttar Pradesh, India, con el objetivo de evaluar el nivel sérico de óxido nítrico entre los pacientes diabéticos y su correlación con el perfil lipídico. Ellos evaluaron 223 pacientes con diabetes tipo 2, con edades comprendidas entre 30 y 50 años, un grupo con hiperuricemia. Se excluyeron pacientes con enfermedad arterial coronaria debido a otras causas, hipotiroidismo, alcohólicos crónicos, usuarios de tabaco, tomando medicamentos antioxidantes, usando drogas para la reducción de lípidos y con otras enfermedades crónicas. Los pacientes fueron divididos en tres grupos: Grupo I (n = 73) - Diabéticos de tipo 2 con dislipidemia e hiperuricemia, Grupo II (n = 76) - Diabéticos tipo 2 con dislipidemia y normouricemia y Grupo III (n = 74) - Tipo 2 Diabéticos con normolipidemia y normouricemia. Los resultados fueron los siguientes el nivel de óxido nítrico fue significativamente menor en el Grupo I y Grupo II que en el Grupo III. Los parámetros de estrés oxidativo tenían una correlación pobre con el nivel de ON en todos los grupos. Nuestros datos sugieren que existe un papel definido del Óxido Nítrico (ON) en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2 con dislipidemia e hiperuricemia ⁽²⁴⁾.

M. Manju et al 2014. En el Medical College Pondicherry, India, realiza un estudio evaluando la relación entre óxido nítrico y hemoglobina glicosilada en pacientes diabéticos, estudio de caso y control con 28 hipertensos diabéticos tipo 2, 32 normotensos diabéticos tipo 2 y 51 controles (normotensos no diabéticos). En los resultados se encontró una diferencia significativa en la distribución de HbA1c, la presión arterial media normalizada (MAPn) y ON ($p < 0,001$) entre los 3 grupos, ya sea medido por ANOVA o prueba de Kruskal-Wallis. En análisis univariado hubo una correlación positiva entre HbA1c y MAPn ($\rho = 0,26$), una correlación negativa entre ON y MAPn ($\rho = -0,54$) y negativa entre HbA1c y ON ($\rho = -0,66$). En el análisis multivariado la HbA1c también mostró una asociación negativa con MAPn. Conclusión: Cuando la

gravedad de la diabetes aumenta, hay un aumento de la PA, que se debe principalmente a la marcada disminución del nivel de ON que enmascara la correlación negativa entre HbA1c en MAPn. Los autores concluyen que los resultados de este estudio apoyan la idea de que la diabetes mellitus afecta al endotelio vascular y al tono vascular al afectar los niveles de ON. El endotelio vascular ha recibido ahora el estatus de un "órgano". En DM, hay disfunción, desregulación y fracaso de los vasos endoteliales. El ON es un potente vasodilatador, sintetizado cuando l-arginina fisiológica se convierte en l-citrulina por acción de la enzima ON sintetasa. La disminución del nivel de ON en pacientes diabéticos hipertensos puede deberse a 1) inactivación de la ON sintetasa; 2) inactivación del ON por especies reactivas de oxígeno producidas por la HbA1c que daña el endotelio vascular; 3) la hemoglobina glucosilada se une al ON en forma de nitrosilos muy fuertemente, de manera que cualquier ON formado no puede ser fácilmente liberado de las células para ayudar a mantener el flujo sanguíneo a través de la relajación de las células musculares lisas; 4) efecto directo de niveles muy altos de glucosa en el endotelio vascular, lo que provoca atenuación significativa de la respuesta al ON 5) resistencia a la insulina en DM tipo 2, es decir, insensibilidad del endotelio a la acción de la insulina lo que provoca una mayor resistencia periférica y por lo tanto aumento de la presión arterial ⁽²⁵⁾.

Nevelsteen Van den Bergh A et al (2013). En un trabajo realizado en los Departamentos de Ciencias Cardiovasculares, Unidad de Investigación de Cirugía Cardíaca Experimental, KU Leuven, Lovaina, y Departamento de Farmacología, Universidad Antwerpen, Amberes, Bélgica. Donde se planteo lo siguiente, la resistencia a la insulina, la dislipidemia y la hipertensión son mediadores independientes de la disfunción endotelial, pero no está bien definido si la dislipidemia y la hipertensión además de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), como se observa en el síndrome metabólico (SM), empeoran la disfunción endotelial inducida por la diabetes. Además, no está claro si el tratamiento influye de forma similar en la disfunción endotelial en la SM y DM2. Por lo tanto, se estudió la reactividad vascular y el efecto del tratamiento in vivo con inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE-I) o dieta hipocalórica en ratones deficientes en receptores LDL y deficientes en leptina (ob / ob) Y en ratones ob / ob con DM2. Los resultados indicaron un impacto diferencial de la

DM2 y el SM sobre la función endotelial. La ACE-I y la dieta hipocalórica mejoraron la vaso relajación inducida por ACh-, pero no por Bradiquinina en estos modelos de ratón con DM2 y SM ⁽²⁶⁾.

Ouviña Susana et al 2004. Evaluaron los niveles plasmáticos de endotelina-1, óxido nítrico (ON), factor von Willebrand (FvW), hemoglobina glicosilada, glucemia, insulinemia (I), fibrinógeno, perfil lipídico y tensión arterial en 30 pacientes hipertensos diabéticos tipo 2 y 25 controles sanos comparables en edad, sexo, índice de masa corporal y hábitos alimentarios y de fumar, con el fin de estudiar la relación entre estas variables en la diabetes tipo 2. Se encontraron elevados los niveles plasmáticos de endotelina-1, factor von Willebrand y fibrinógeno y óxido nítrico bajo, en los pacientes respecto del grupo control ($p < 0,05$). Dentro del grupo de pacientes se halló una correlación negativa y significativa entre ON E-1 ($p < 0,05$) y entre ON y FvW ($p < 0,05$). Los resultados obtenidos sugieren que el estado protrombótico en estos pacientes estaría determinado por la menor biodisponibilidad de óxido nítrico, los niveles aumentados de endotelina-1 y el estado inflamatorio y de daño endotelial reflejados por los altos niveles de fibrinógeno y de factor von Willebrand asociados a la dislipemia y al estado de insulino-resistencia ⁽²⁷⁾.

Stephen W et al. (1996). Realizaron un estudio en la División Cardiovascular, Hospital Brigham and Women's, Facultad de Medicina de Harvard, Boston, Massachusetts. Esta investigación buscó determinar si la vasodilatación mediada por óxido nítrico es anormal en pacientes con diabetes mellitus no insulino-dependiente. Múltiples investigaciones, tanto en modelos experimentales como en pacientes con diabetes mellitus insulino-dependiente, demuestran alteración de la vasodilatación dependiente del endotelio. La disminución de la disponibilidad de óxido nítrico derivado del endotelio puede contribuir a la alta prevalencia de enfermedad vascular en la diabetes. La reactividad vascular se midió en los vasos de resistencia del antebrazo de 21 pacientes con diabetes mellitus no insulino-dependiente y 23 sujetos sanos controlados. Ningún paciente tenía hipertensión o hipercolesterolemia. Cada sujeto fue tratado con aspirina para inhibir la producción endógena de prostanoïdes vasoactivos. Se administró cloruro de metacolina (0,3 a 10 μg / min) a través de una cánula de la arteria braquial para

evaluar la vasodilatación del óxido nítrico derivado del endotelio. Se infundió nitroprusiato de sodio (0,3 a 10 μg / min) para evaluar la vasodilatación a un donador exógeno de óxido nítrico. Se administró verapamilo (10 a 300 μg / min) para distinguir la vasodilatación mediada por óxido nítrico alterada de la disfunción general del músculo liso vascular. El flujo sanguíneo del antebrazo se determinó por pletismografía de oclusión venosa, y se generaron curvas dosis-respuesta para cada agente. Para evaluar el papel de los prostanoïdes vasoconstrictores, un subgrupo de ocho sujetos diabéticos fue reexaminado en ausencia de tratamiento con aspirina. Los resultados fueron los siguientes: el flujo sanguíneo basal del antebrazo en sujetos diabéticos y no diabéticos fue comparable. Las respuestas del flujo sanguíneo del antebrazo tanto al cloruro de metacolina como al nitroprusiato se atenuaron significativamente en pacientes diabéticos en comparación con los no diabéticos ($p < 0,005$ por análisis de varianza para ambos agentes). En contraste, la respuesta al verapamilo no fue significativamente diferente entre los grupos ($p > 0,50$). Las respuestas del flujo sanguíneo del antebrazo a estos agentes no fueron afectadas significativamente por la inhibición de la ciclooxigenasa. Y ellos llegaron a la conclusión que la vasodilatación mediada por óxido nítrico está alterada en la diabetes mellitus no insulín dependiente. Los prostanoïdes vasoconstrictores no contribuyen significativamente a la disfunción vascular. La respuesta atenuada a los donantes de óxido nítrico tanto exógenos como endógenos sugiere que la anomalía se debe a una mayor inactivación del óxido nítrico que a una disminución de la reactividad del músculo liso vascular al óxido nítrico ⁽²⁸⁾.

Marco Teórico

La diabetes mellitus es una enfermedad con una prevalencia cada vez mayor, en la cual se necesita continuar con la investigación de nuevos métodos para prevenir y tratar este trastorno. Diversos factores se han asociado a la aparición de la diabetes mellitus, entre ellos la herencia, la alimentación, pero dentro de la patogénesis se han relacionado otros factores que podrían estar asociados como son el hiperinsulinismo, las dislipidemias y en la actualidad se señalan y se estudian otros elementos que podrían estar involucrados como: composición de ácidos grasos, alteraciones del óxido

nítrico y el estrés oxidativo, por lo que, relacionar estos elementos con la patogénesis de la diabetes mellitus y sus complicaciones sería relevante para disminuir la aparición de esta enfermedad y/o minimizar las complicaciones crónicas de la misma. Recientemente, el énfasis se ha centrado en evaluar el estrés oxidativo en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2 y sus complicaciones. El principio básico del control de la diabetes mellitus tipo 2 es controlar la hiperglucemia, porque la hiperglucemia persistente conduce al desarrollo de estrés oxidativo ⁽³⁾. Se ha implicado el efecto tóxico de la hiperglucemia mantenida sobre la fisiología del endotelio, pero también existen otros factores asociados como las alteraciones del metabolismo lipídico secundario a la resistencia insulínica, la obesidad e hipertensión concomitantes y alteraciones moleculares aun no del todo bien definidas⁽²⁶⁾.

Los diabéticos exhiben alta actividad de radicales libres, originando intermediarios químicos altamente reactivos y tóxicos. La protección contra el daño producido por estos, está dada por la acción del sistema antioxidante mediante las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y la (GPX), las cuales detoxifican e impiden oxidaciones biológicas. Se ha postulado que la hiperglucemia sostenida favorece la oxidación de la glucosa y la oxidación del óxido nítrico (uno de los principales vasodilatadores y antiagregantes del organismo) lo cual causaría desbalance en los mecanismos de oxidación que conllevaría a hiperproducción de radicales libres de oxígeno, ocasionando disturbios en la dinámica metabólica de muchos tejidos, en las células de las membranas endoteliales, causando además apoptosis de las células beta de los islotes de Langerhans que originan la insulina, oxidación de las lipoproteínas de baja densidad e inactividad de vitaminas antioxidantes. Lo que favorece la generación de radicales libres y conlleva a fenómenos aterogénicos, hipertensión arterial (HTA), macro y microangiopatía diabética ⁽²⁷⁾.

Efecto de la oxidación en el endotelio: Las células del endotelio vascular cumplen un papel decisivo para mantener la homeostasis cardiovascular. Además de proveer una barrera física en la pared vascular y el lumen, el endotelio se considera en la actualidad

un órgano perteneciente al sistema neuroendocrino difuso, cuyas células ejercen funciones vasodilatadoras y vasoconstrictoras, anticoagulantes y pro coagulantes, antiinflamatorias y proinflamatorias, proliferativas y antiproliferativas, angiogénicas y antiangiogénicas, inmunes y autoinmunes, y autocrinas, paracrinas y endocrinas; y sintetizan moléculas disímiles con funciones vasoactivas y hormonales, neuropéptidos, neurotransmisores, citoquinas, factores de crecimiento, factores quimio atrayentes, moléculas de adhesión celular y receptores de membrana, lo que contribuye a convertirlo en el órgano más versátil del organismo humano. El factor relajador predominante es el óxido nítrico ON, sintetizado desde L-arginina a través del sistema de enzimas conocido como óxido nítrico sintasas (ONS) que convierte L-arginina y oxígeno en ON y L-citrulina. Se distinguen tres isoformas de ONS, dos de ellas constitutivas, que se expresan en diferentes tejidos en condiciones fisiológicas o patológicas y son dependientes de calcio, la endotelial (eONS) y la neural (nONS); la isoforma inducible (iONS) está presente en macrófagos y células inflamatorias. Fisiológicamente, la isoforma inducible se expresa en muy bajas concentraciones y su transcripción puede ser inducida por citoquinas como interleukina-1, factor de necrosis tumoral y factores de crecimiento.

Además de su rol vasodilatador, el ON (entre otras funciones) es un inhibidor de crecimiento y migración celular, de la expresión de moléculas pro inflamatorias y de adhesión. Por este motivo, el endotelio normal tiene funciones anti-trombóticas y anti-ateroescleróticas, inhibe la agregación plaquetaria, la adhesión de monocitos y la proliferación del músculo liso vascular, todos factores de importancia en el desarrollo de aterosclerosis y disrupción de la placa aterosclerótica. Por el contrario, en el endotelio disfuncional se induce la síntesis de moléculas quimotácticas y de adhesión para monocitos y linfocitos T y de factores que inducen diferenciación de monocitos a macrófagos. El endotelio disfuncional promueve la agregación plaquetaria a través de una menor disponibilidad de óxido nítrico y favorece la trombosis a través de una alteración de la relación entre activador del plasminógeno versus su inhibidor endógeno. Estudios in vitro han evidenciado que las células endoteliales provenientes de un endotelio disfuncional, presentan un estado protrombótico caracterizado por un aumento de la actividad de factor tisular y disminución de la actividad de proteína C. ⁽²⁰⁾

La insulina tiene una acción vasodilatadora específica en el músculo esquelético, la que parece tener importancia en la mantención del tono vascular y en la modulación de la absorción de sustratos. Se ha demostrado que el efecto vasodilatador está mediado por ON. En sujetos obesos que presentan resistencia a la insulina y en diabetes mellitus, la vasodilatación dependiente de endotelio se encuentra disminuida en 40-50% en relación con controles no-obesos. La respuesta vasodilatadora a la insulina también está deteriorada en estos pacientes

De forma general, se puede definir la disfunción endotelial (DE) como la serie de alteraciones que afectan la síntesis, la liberación, la difusión o la degradación de los factores que se sintetizan por el endotelio. Entre los mecanismos inductores de daño vascular, y en consecuencia, de DE y las enfermedades que se asocian con su aparición, se encuentran: el estrés oxidativo, la hiperhomocisteinemia, la dislipidemia, la hipertensión arterial (HTA), la obesidad, el hiperinsulinismo y la diabetes mellitus (DM). Por su parte, la DE se ha detectado en prácticamente todas las enfermedades vasculares, y se presenta en estas en muchos de los casos, incluso, antes de que aparezcan las manifestaciones clínicas ^(28,29).

La diabetes es compleja, existen diversos factores fisiopatológicos que incluyen dislipoproteinemia, el estrés oxidativo y la inflamación. Aunque la disglucemia es muy importante, la hipertensión y la resistencia a la insulina operan principalmente a través de la oxidación y las vías pro-inflamatorias ⁽²¹⁾.

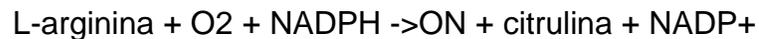
Una de las formas de poder entender las implicaciones sistémicas del estrés oxidativo en la hiperglucemia, es asociarlas con las diferentes complicaciones crónicas de la diabetes, sobre todo cuando existe un estado de hiperglucemia, y relacionarlas con los diferentes estados de estrés oxidativo que se están dando a lugar.

Óxido nítrico

El óxido nítrico (ON) es una molécula pequeña compuesta por 2 átomos, uno de nitrógeno y el otro de oxígeno, lo que determina un número total de 15 electrones ⁽²⁸⁾. Este número impar de electrones implica la existencia de un electrón desapareado ubicado en el orbital molecular más externo, lo que le da su carácter de radical libre y

una especie biológica relativamente estable con una vida media en medios biológicos, de entre 1 a 60 s. El ON es una molécula apolar que participa bien en medios hidrofóbicos, lo que le permite concentrarse y difundir a través de membranas biológicas ⁽²⁹⁾. Esta propiedad es importante para el entendimiento de sus funciones biológicas, porque funciona en muchas ocasiones como mensajero intercelular, que puede difundir rápidamente de un tipo celular a otro, por mecanismos pasivos que no requieren transportadores de membrana. Desde el punto de vista redox, es un débil agente oxidante y algo mejor reductor.

El ON es sintetizado enzimáticamente por intermedio de una familia de enzimas denominadas colectivamente ON sintetasa (NOS), ampliamente distribuidas en tejidos de mamíferos. Las NOS catalizan la reacción siguiente:



La reacción determina la oxidación del grupo guanidino de la arginina a ON.

Han sido identificadas y clonadas 3 tipos de isoformas de NOS:

La variedad neuronal (nNOS o tipo I).

La variedad macrófaga o citoquina-inducible (iNOS / mNOS o tipo II).

La variedad endotelial (eNOS o tipo III).

Las eNOS y nNOS son variedades constitutivas de la NOS y su actividad se regula por activación calcio-calmodulina dependiente.

El ON ejerce sus acciones biológicas a través de reacciones con un número limitado de biomoléculas.

I. Reacciones con metaloproteínas.

La mayor parte del papel fisiológico del ON se cumple mediante su unión con una hemoproteína, la guanilato ciclasa, que luego de su interacción con él ON para formar el complejo guanilatociclasa-ON, es activada para la síntesis de GMPc a partir de GTP. Otras reacciones importantes incluyen su unión a otras hemoproteína, como la citocromo oxidasa mitocondrial o el citocromo P-450 microsomal.

Otras proteínas que contienen hierro formando parte de centros ferrosulfurados interaccionan con ON, como la aconitasa, enzima del ciclo de Krebs ⁽³⁰⁾. Una mención

especial se refiere a la reacción del ON con oxihemoglobina, que representa la ruta principal de eliminación del ON al nivel del espacio intravascular, y que asegura que él ON actúe como una señal local al nivel de los tejidos que la producen. Esta reacción es muy rápida ($k = 2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$) y resulta en la oxidación del ON a nitrato y la conversión de oxihemoglobina a metahemoglobina.

II. Reacción con sulfhidrilos.

La interacción de ON con sulfhidrilos lleva a la formación de nitrosotioles (RSON). Los nitrosotioles, en particular la nitrosoalbúmina y nitrosoglutatión, representan formas de almacenamiento de ON. Además, la formación de nitrosotioles está involucrada en la modulación de actividad de enzimas y transportadores que contienen grupos sulfhidrilos. Sin embargo, es importante destacar que la formación de nitrosotioles no ocurre mediante una reacción directa con el ON y el grupo tiol, sino que requiere de una oxidación previa del ON, sea mediante la reacción con metales de transición o su oxidación en medios aerobios a intermediarios como el trióxido de dinitrógeno.

III. Reacciones con el oxígeno.

En medios aerobios él ON reacciona con el oxígeno molecular y evoluciona a dióxido de nitrógeno (ON_2). El ON_2 es también un radical libre, con mayor poder oxidante que el ON, además de ser un agente nitrante, es decir; capaz de adicionarse como función nitro (NO_2) a una biomolécula⁽³⁰⁾.

IV. Reacciones con superóxido.

Una reacción clave del ON es la reacción de combinación con el radical superóxido (O_2^-). Esta reacción entre 2 radicales libres transcurre a velocidades controladas por difusión y resulta en la formación de una especie no radicalar, el anión peroxinitrito (ONOO^-).¹² El anión peroxinitrito se protona a pH fisiológico ($\text{Pka}=6,8$) a ácido peroxinitroso (ONOOH). El peroxinitrito es una molécula inestable y reactiva, que en ausencia de otras moléculas se isomeriza a nitrato.

Tanto el anión peroxinitrito como su ácido conjugado son oxidantes fuertes que atacan un número variado de biomoléculas (S), incluso sulfhidrilos de bajo y alto peso molecular, metaloproteínas, lípidos, azúcares y ADN; llevando a la formación de

productos (P) oxidados y nitrados ⁽¹³⁻¹⁵⁾. La nitración es particularmente importante en aminoácidos aromáticos como la tirosina, la fenilalanina y el triptófano.

V. Reacción con radicales orgánicos.

El ON reacciona con radicales orgánicos a velocidades elevadas. Es de particular interés remarcar las reacciones con radicales lipídicos que aparecen durante los procesos de peroxidación de membranas, como el radical lipoperóxido (LOO*), que da lugar a la formación de complejos de lípidos

Funciones biológica del ON

El ON endotelial, funciona como un mensajero intercelular que determina la relajación vascular al nivel local.

"Diversos mediadores" como: bradikinina, ATP, acetil colina e ioróforos del calcio, estimulan la síntesis endotelial del ON, que una vez producido, difunde a través de las membranas hasta llegar a las células subendoteliales de músculo liso. Una vez en estas células, el ON activa la guanilato ciclasa, con la consecuente producción de GMPc, que participa en la activación de las bombas de calcio del sarcoplasma. Esta activación resulta en un secuestro sarcoplásmico de calcio y en su disminución intracelular, con lo que el músculo liso se "relaja".

Participa en la regulación de la expresión genética, por ejemplo el ON inhibe la expresión de proteínas de adhesión en el endotelio vascular, a través de su interacción con el factor de transcripción nF-KB.

Al nivel del sistema inmunológico (macrófagos, neutrófilos), el ON participa como molécula efectora citotóxica, sobre las bacterias, virus, parásitos y células tumorales. Esta actividad está relacionada a su interacción con enzimas del metabolismo energético, inhibiendo este y a una inhibición de la síntesis de ADN de la célula blanco.

Funciones fisiológicas: - Vasodilatación, Inhibición de la agregación plaquetaria, Neurotransmisión, Modulación de la actividad cardíaca. Modulación de la respuesta inmune.

ON y procesos patológicos

La sobreproducción del ON puede activar la respuesta fisiológica mediada por el ON, como puede ser la sobre estimulación de la actividad guanilato ciclasa.

Este fenómeno puede estar vinculado a la hipotensión refractaria observada en la sepsis, en donde una vasodilatación persistente, en parte mediada por un exceso de producción intravascular de ON, genera la caída sostenida de la presión arterial en la periferia. Un exceso de ON también conduce a la inhibición de la respuesta celular, porque el ON compite por el sitio de fijación del oxígeno al nivel de la oxidasa terminal de la cadena respiratoria. Esta inhibición conduce a una depleción del pool de ATP y alteraciones de la homeostasis de calcio. Por otra parte, un exceso de producción de ON resulta en la generación de otros óxidos de nitrógeno, de mayor actividad y poder oxidativo que el ON per se, lo que lleva a la toxicidad por procesos de daño oxidativo (31-33)

El patrón lipídico característico de la diabetes tipo 2 consiste en un aumento de la concentración de triglicéridos, disminución en los niveles de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) y aumento en el número de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas.

Las partículas LDL pequeñas y densas son más aterogénicas debido a diferentes modificaciones como la glicosilación o la oxidación que las hacen más susceptibles a la fagocitosis por parte de los macrófagos subendoteliales, y por otra parte, tienen un catabolismo disminuido por su menor afinidad al receptor hepático de las LDL, lo que permite un mayor tiempo de residencia vascular y paso al espacio subendotelial. (34)

La disfunción endotelial es un hallazgo bien conocido en pacientes hipercolesterolémicos y son múltiples los factores que contribuyeron a esto, incluido el aumento de la inactivación del óxido nítrico por los radicales libres e inhibición de la formación del mismo por diferentes mecanismos. (35)

La peroxidación de los lípidos, en las lipoproteínas de la pared vascular, conducen a la producción local de especies carbonil reactivas que median el reclutamiento de macrófagos, activación celular y proliferación. (36)

Objetivo General

Evaluar los niveles séricos de óxido nítrico en pacientes diabéticos tipo 2 y su correlación con el perfil lipídico.

Objetivos Específicos

- 1.- Determinar parámetros antropométricos, tensión arterial y valores de glucemia basal, ácido úrico, colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y HbA1c en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con y sin dislipidemia
- 2.- Determinar valores de óxido nítrico en pacientes diabéticos tipo 2 con y sin dislipidemia
- 3.- Correlacionar valores de óxido nítrico con edad, tiempo de evolución de la diabetes, parámetros antropométricos y tensión arterial
- 4.- Correlacionar valores de óxido nítrico con glucemia basal, hemoglobina glicosilada (HbA1c), valores de lipídicos y de ácido úrico.

Aspectos éticos

Esta investigación cumplirá con todos los principios éticos que son requeridos por la Declaración de Helsinki, los pacientes fueron informados sobre el estudio, firmaron un consentimiento para su participación y su realización no conlleva ningún riesgo para ellos.

MÉTODOS

-Tipo de estudio

Estudio descriptivo, cuyo interés fue evaluar los niveles de óxido nítrico en pacientes diabéticos y su asociación con el perfil lipídico

-Población y Muestra

La población estuvo conformada por 72 sujetos de ambos sexos entre 30 a 65 años, que acudieron a la consulta de Endocrinología del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo en el periodo comprendido de junio a agosto del 2017

Muestra

Se formaron tres grupos de la siguiente manera: Grupo 1 (n = 22) - Diabéticos tipo 2 con dislipidemia, Grupo 2 (n = 25) - Diabéticos tipo 2 sin dislipidemia y Grupo 3 (n =25) – Controles sanos

Criterios de Inclusión

- 1) Sujetos adultos de uno u otro sexo.
- 2) Pacientes con edad entre 30 y 65 años.
- 3) Firma del consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- 1) Pacientes con diabetes mellitus tipo 1
- 2) Pacientes con diabetes gestacional
- 3) Enfermedad renal crónica estadio 5 en hemodiálisis.
- 5) Presentar deficiencias motoras que dificultaran la ejecución de las pruebas.
- 6) Pacientes con otras causas de neuropatía periférica.
- 7) Alcoholismo.
- 8) Enfermedades degenerativas del tejido conectivo.
- 9) Secuelas de enfermedad cerebrovasculares.

10) Enfermedades vertebro-medulares.

11) Amputación de extremidades.

Variables

Variables Independientes

-No modificables

Edad: Número de años contados a partir de la fecha de nacimiento hasta el momento del estudio

Sexo: Fenotipo masculino o femenino, sujetos con caracteres sexuales masculinos o femeninos.

-Modificables

Peso

Talla

Índice de masa corporal (IMC): relación Peso/Talla^2

Peso inferior al normal Menos de 18.5

Normal 18.5 – 24.9

Peso superior al normal 25.0 – 29.9

Obesidad Más de 30.0

Circunferencia de Cintura: Medida con cinta métrica inextensible de 2 metros de largo, de 0.5 centímetros de ancho, se medirá en expiración profunda el punto medio entre el reborde costal y la cresta iliaca, el resultado se obtendrá en centímetros.

≤ 94 cm en hombres

≤ 80 cm en mujeres

Tensión arterial

Categoría	Sistólica mm/hg	Diastólica mm/hg
-----------	-----------------	------------------

Normal	< 120	< 80
--------	-------	------

Pre hipertensión	120-139	o 80-89
------------------	---------	---------

Hipertensión	≥ 140	≥ 90
--------------	-------	------

Se tomaron como normales los valores reportados por la Asociación Norteamericana del Corazón en el Séptimo Reporte del Comité Nacional Conjunto de Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial (JNC7, por sus siglas

en inglés), Valores normales de acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes (IDF) ⁽³⁷⁾.

VARIABLES DEPENDIENTES

Para determinar el control metabólico, se siguieron las recomendaciones de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) ⁽³⁸⁾ sobre los niveles que deben tener las personas con diabetes:

Glucemia:

Glucemia en ayunas ≤ 100 mg/dl

Hemoglobina Glicosilada:

Se evaluaron los parámetros de hemoglobina glicosilada (HBA1c) tomando como valor de control $\leq 7\%$ ⁽²⁶⁾

VALORES LIPÍDICOS

Colesterol total: Colesterol total en sangre, los promedios obtenidos son comparados con los promedios nacionales y clasificados por categoría de riesgo, según Consenso Nacional de Lípidos, valor normal de referencia < 180 mg/dl

Colesterol HDL: HDL-C en sangre periférica, valor normal utilizando los referidos por el Consenso Nacional de Lípidos. Hombres >40 mg/dl, Mujeres >50 mg/dl

Colesterol LDL: LDL-C en sangre periférica, tomando como valor de referencia normal menor 110 mg/dl.

Triglicéridos: medidos en sangre periférica, tomando como valor normal menor de 150 mg/dl. ⁽³⁹⁾.

Creatinina: medida en sangre periférica, tomando como valor normal $0,8$ a $1,4$ mg/dl

Óxido nítrico: medida en sangre periférica, tomando como valor normal a determinar en la población sana.

PROCEDIMIENTOS

Previo consentimiento informado, firmado por los sujetos participantes en el estudio se procedió a realizar historia clínica según formato preestablecido, que incluyó un

interrogatorio, sobre patologías previas y concomitantes, examen físico completo con medidas antropométricas, (peso, talla, circunferencia de cintura e índice de masa corporal), toma de tensión arterial y exámenes paraclínicos.

Evaluación bioquímica:

A cada sujeto en ayuno de 14 horas se le extrajo 20 ml de sangre periférica en tubos Vacutainer con EDTA y sin EDTA los cuales fueron centrifugados a 2.000 rpm por 20 minutos, y separados el suero y plasma para determinar: colesterol, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos, glucemia, ácido úrico, creatinina y Hemoglobina Glicosilada plasmática en ayunas por método enzimático colorimétrico de Randox, en el equipo HITACHI 912 y Óxido Nítrico por el método de Elisa de la casa Comercial de Cayman. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones Endocrinológicas del “Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo”.

Tratamiento Estadístico Los datos recopilados en esta investigación fueron analizados mediante el uso de una hoja de cálculo en el programa Excel y mediante el software estadístico SPSS ver 20, para realizar la comparación de medias y establecer la significancia estadística. Para la descripción de los datos, en el caso de las variables cualitativas (nominales) se expresaron en cuadros simples y cruzados, con frecuencias simples y porcentajes, se calculó el promedio (Media aritmética) y la desviación estándar de las variables cuantitativas (razón). Para evaluar la significancia estadística de las variables previstas en los objetivos específicos, se utilizó la prueba de hipótesis no paramétrica de independencia. Se considerará un valor significativo de contraste si $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se evaluaron 72 pacientes, distribuidos en 3 grupos, 25 controles sanos, un grupo de 25 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 sin dislipidemia y un tercer grupo de 22 pacientes portadores de diabetes mellitus con dislipidemia. La distribución por género fue 60% masculinos en el grupo diabético sin dislipidemia y 68,18% masculinos en el grupo con diabetes y dislipidemia. Los promedios de edad fueron $39,36 \pm 9,3$ años en el grupo control, $50,52 \pm 8,50$ años en el grupo de diabéticos sin dislipidemia y $55,22 \pm 6,46$ años en diabéticos con dislipidemia; no hubo diferencias significativas en el grupo etario entre los dos grupos portadores de diabetes ($p = 0,178$) pero si diferían significativamente del grupo control ($p < 0,001$). El tiempo de evolución de la diabetes fue discretamente mayor en el grupo portador de diabetes con dislipidemia vs el que no tenía dislipidemia, $8,00 \pm 4,76$ años vs $7,28 \pm 3,90$ años, pero sin significancia estadística ($p = 0,814$) (Tabla 1).

Con respecto a las medidas antropométricas el promedio de peso, IMC, y Circunferencia de cintura (CC) fue significativamente menor en el grupo control con respecto a los otros grupos ($p < 0,001$). En el caso de los grupos con diabetes no hubo diferencias significativas en cuanto a peso $76,72 \pm 14,12$ kg vs $75,34 \pm 14,74$ kg ($p = 0,856$), IMC $27,71 \pm 3,18$ kg/m² vs $27,26 \pm 1,81$ kg/m² ($p = 0,624$) y CC $97,23 \pm 14,27$ cm vs $100,31 \pm 7,37$ cm ($p = 0,508$). Las tensiones arteriales no presentaron diferencias significativas entre los grupos ($p = 0,04$ y $p = 0,01$) (Tabla 1).

En los exámenes de laboratorio la glicemia resulto en $117,56 \pm 33,31$ mg /dl en diabéticos no dislipidemicos vs $123,59 \pm 10,49$ mg /dl en diabéticos dislipidemicos, no significativo ($p = 0,258$); creatinina $0,87 \pm 0,31$ mg/dl vs $0,80 \pm 0,19$ mg/dl ($p = 0,635$) y ácido úrico en diabéticos no dislipidemicos $4,66 \pm 1,66$ mg/dl vs $5,41 \pm 0,93$ mg/dl en diabéticos dislipidemicos, como vemos hay un promedio más elevado en los dislipidemicos pero sin significancia ($p = 0,135$), pero si hay un valor significativamente diferente de los grupos portadores de diabetes al del grupo control que reporto $3,83 \pm 0,93$ mg/dl ($p < 0,001$) (Tablas 1 y 2)

Los resultados de HbA1c fueron $4,81 \pm 0,76\%$ en grupo control, $7,00 \pm 1,44\%$ en grupo diabéticos sin dislipidemia y $6,8 \pm 0,76\%$ en diabéticos con dislipidemia, diferencia no significativa entre los grupos portadores de diabetes ($p = 0,559$) (Tabla 1).

En los resultados de los valores lipídicos encontramos lo siguiente, los resultados fueron significativamente mayores en los pacientes diabéticos que en los controles, además fueron mayores en los pacientes diabéticos con dislipidemia, en estos casos se reportó lo siguiente Colesterol total fue de $176,92 \pm 26,87$ mg/dl vs $196,63 \pm 49,08$ mg/dl ($p = 0,064$), triglicéridos $174,54 \pm 78,00$ vs $146,36 \pm 47,23$ mg/dl ($p = 0,424$), LDL $121,09 \pm 27,06$ mg/dl vs $109,08 \pm 35,86$ mg/dl ($p = 0,638$), además el valor de HDL fue más bajo en los pacientes diabéticos con dislipidemia $39,14 \pm 10,44$ vs $43,96 \pm 10,88$ ($p = 0,501$) (Tabla 2).

En cuanto al objetivo principal que era determinar óxido nítrico en pacientes diabéticos con o sin dislipidemia, se encontró que el óxido nítrico fue significativamente menor en los pacientes diabéticos versus los controles ($p < 0,001$), pero no hubo diferencias significativas entre diabéticos no dislipidémicos y dislipidémicos $12,57 \pm 0,40$ vs $11,77 \pm 0,49$ ($p = 0,236$) (Tabla 1).

Al correlacionar óxido nítrico con edad, diferentes parámetros antropométricos y tensión arterial se encontró lo siguiente: óxido nítrico se correlaciona de manera inversamente proporcional o negativa con la edad de los individuos ($r = -0,355$; $p = 0,002$), peso ($r = -0,307$; $p = 0,009$), IMC ($r = -0,354$; $p = 0,002$), circunferencia de cintura ($r = -0,355$; $p = 0,004$) y presión arterial sistólica ($r = -0,331$; $p = 0,005$), la relación fue moderada en todos los casos pero fue significativa desde el punto de vista estadístico ($p = 0,002$ a $p = 0,009$). Lo que significa que al aumentar cualquiera de esos parámetros disminuye óxido nítrico (Tabla 3).

El óxido nítrico presentó una correlación negativa moderada, pero significativa con los siguientes parámetros bioquímicos colesterol total ($r = -0,369$; $p = 0,001$), LDL-colesterol ($r = -0,375$; $p = 0,001$), glicemia ($r = -0,400$; $p < 0,001$), ácido úrico ($r = -0,304$; $p = 0,009$), HbA1c ($r = -0,345$; $p = 0,019$) (Tabla 3).

DISCUSIÓN

La DM es la responsable del 80 por ciento de las muertes por aterosclerosis coronaria, cuya complicación, se presenta con una frecuencia entre dos y cuatro veces más en esta población. Evidencias acumulativas sugieren que la hiperglucemia en la DM tipo 2 puede producir cambios importantes en la producción de óxido nítrico (NO) y también en su acción.

En nuestro estudio se evalúan dos grupos de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, pero uno de ellos con dislipidemia y se comparan con un grupo control. La primera evidencia que encontramos es que las concentraciones de ON se encontraron más bajas en los pacientes con diabetes tipo 2, al igual que en el trabajo de Seiko Miyata. Pero a diferencia de lo que reporta este mismo autor, no se presentaron diferencias significativas en los valores de óxido nítrico entre diabéticos sin o con dislipidemia, aunque si hubo una tendencia a ser más bajo en este último grupo. ⁽²²⁾

Al igual que en muchos estudios, nuestros resultados demuestran que el óxido nítrico se reduce en relación con una mayor edad, con mayor peso e índice de masa corporal, con la circunferencia de cintura. Y también en relación con la elevación de las cifras tensionales lo cual coincide con los datos de Seiko y colaboradores. ⁽²²⁾

Los resultados de Seiko Miyata, demostraron que los niveles plasmáticos de ON son más bajos en la hipertensión, dislipidemia, diabetes tipo 2 y comorbilidades de estas enfermedades lo cual coincide con nuestros resultados.

El óxido nítrico, se relacionó de manera negativo con los valores de lípidos, colesterol total, LDL colesterol, también con ácido úrico, y glucemia y HbA1c. Lo cual coincide con el trabajo de Manju y colaboradores. ⁽²⁵⁾

Los resultados de diferentes estudios apoyan la idea de que la diabetes mellitus afecta al endotelio vascular y al tono vascular al afectar los niveles de ON. El endotelio vascular ha recibido ahora el estatus de un "órgano". En DM, hay disfunción, desregulación y fracaso de los vasos endoteliales. El ON es un potente vasodilatador, sintetizado cuando l-arginina fisiológica se convierte en l-citrulina por acción de la

enzima ON sintetasa. La disminución del nivel de ON en pacientes diabéticos hipertensos puede deberse a 1) inactivación de la ON sintetasa; 2) inactivación del ON por especies reactivas de oxígeno producidas por la HbA1c que daña el endotelio vascular; 3) la hemoglobina glucosilada se une al ON en forma de nitrosilos muy fuertemente, de manera que cualquier ON formado no puede ser fácilmente liberado de las células para ayudar a mantener el flujo sanguíneo a través de la relajación de las células musculares lisas; 4) efecto directo de niveles muy altos de glucosa en el endotelio vascular, lo que provoca atenuación significativa de la respuesta al ON 5) resistencia a la insulina en DM tipo 2, es decir, insensibilidad del endotelio a la acción de la insulina lo que provoca una mayor insulina resistencia periférica y por lo tanto aumento de la presión arterial.

En Conclusión la disminución de los niveles de óxido nítrico es un factor determinante en la disfunción endotelial presente en la diabetes mellitus y sus complicaciones.

El oxido nítrico se ve afectado en pacientes diabéticos por múltiples factores como la obesidad y la hipertensión asociada, la hiperglucemia persistente, la hiperurcemia y dislipidemia.

RECOMENDACIONES

Se sugiere ampliar el número de muestras analizadas, para establecer un punto de corte en la población venezolana de oxido nítrico para considerarse como un marcador temprano de riesgo de enfermedades cardiometabólicas.

REFERENCIAS

1. Le Roit D, Taylor SI, Olefsky JM. Diabetes Mellitus. Texto básico y clínico. 2ª ed. Ed. Mc-Graw Hill, Interamericana. México, D.F.2003: 1331 pág.
2. Khan A, Laker SS, Chowdhury TA. Are spouses of patients with type 2 diabetes at increased risk of developing diabetes? *Diabetes Care*, 2003; 26:710-712.
3. Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the etiology of diabetes mellitus and complications. *Br Med Bull*, 1993; 49:642-652.
4. www.entornomedico.org/noticias/print.php?sid=2077 2005.
5. Benjamin SM, Valdez R, Geiss LS, Rolka DB, Narayan KM. Estimated number of adults with prediabetes in the US in 2000: Opportunities for prevention. *Diabetes Care*, 2003; 26:645-649.
6. Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, Abdollahi M. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. *Arch Med Res*, 2005; 36:376-381
7. Ceriello A, Mercuri F, Quagliari L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*, 2001; 44:834-838.
8. David G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*, 2005; 7:256-268.
9. Pitozzi V, Giovannelli L, Bardini G, Rotella CM, Dolara P. Oxidative DNA damage in peripheral blood cells in type 2 diabetes mellitus: higher vulnerability of polymorphonuclear leucocytes. *Mutat Res*, 2003; 529:129-133.
10. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother*. 2005; 59:365---73.
11. Sakamaki H, Akazawa S, Ishibashi M, Izumino K, Takino H, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Goto S, Urata Y, Kondo T, Nagataki S. Significance of glutathione-dependent antioxidant system in diabetes-induced embryonic malformations. *Diabetes*, 1999; 48:1138-1144
12. Avogaro A, Albiero M, Menegazzo L, Kreutzenberg S, Fadini GP. Disfuncion endothelial en la diabetes. *Diabetes Care*.2013; 13(5):3--8.
13. Moreira ED Jr, Neves RC, Nunes ZO, de Almeida MC, Mendes AB, Fittipaldi JA, et al., Venezuelan Diabetes Investigators' Group. Glycemic control and its correlates in patients with diabetes in Venezuela: results from a nationwide survey. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;87(3):407---14
14. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, et al.; American Diabetes Association (ADA); European Association for the Study of Diabetes (EASD). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2012; 35:1364-79

15. Henriksen EJ, Diamond-Stanic MK, Marchionne EM. Oxidativ estress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med.* 2010
16. St Zatalia R, Sanusi H. The role of antioxidants in the pathophysiology, complications, and management of diabetes mellitus. *Indones J Intern Med.* 2013;45(2)
17. Ceriello A, Testa R. Antioxidant anti-inflammatory treatment in type 2 diabetes. *Diab Care.* 2010; 32(2):S232---6.
18. Alexánder E, Calleja R, Martínez A, Lamothe PA, Ochoa JM, Meléndez G, et al. El impacto de la detección de disfunción endotelial en la aterosclerosis: estudio mediante tomografía por emisión de positrones. *Arch Cardiol Méx.* 2010; 80(1):36-40.
19. Cohen RA. Role of nitric oxide in diabetic complications. *Am J Ther.* 2005;12(6):499-502
20. Tyagi SC, Hayden MR. Role of nitric oxide in matrix remodeling in diabetes and heart failure. *Heart Fail Rev.* 2003; 8(1):23-8.
21. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(5):816-23
22. Seiko Miyata¹, Akiko Noda², Yuki Hara³, Jun Ueyama³, Kiyoyuki Kitaichi⁴, Takaaki Kondo³, Yasuo Koike² Miyata Nitric Oxide Plasma Level as a Barometer of Endothelial Dysfunction in Factory Workers. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017 Nov; 125(10):684-689.
23. Mishra S, Mishra BB tudy of Lipid Peroxidation, Nitric Oxide End Product, and Trace Element Status in Type 2 Diabetes Mellitus with and without Complications. *Int J Appl Basic Med Res.* 2017 Apr-Jun;7(2):88-9
24. Sanjeev Kumar et al., Evaluation of the Serum Levels of Nitric Oxide among Diabetic Patients and its Correlation with Lipid Profile as well as Oxidative Stress. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2016 May, Vol-10(5): OC44-OC47
25. M. Manju, Sasmita Mishra, B. D. Toora, Vijayakumar, R. Vinod. Relationship between Glycosylated Hemoglobin, Serum Nitric Oxide and Mean Arterial Blood Pressure *Int J Biomed Sci* vol. 10 no. 4 December 2014
26. Nevelsteen I1, Van den Bergh A, Van der Mieren G, Vanderper A, Mubagwa K, Bult H, Herijgers P. NO-dependent endothelial dysfunction in type II diabetes is aggravated by dyslipidemia and hypertension, but can be restored by angiotensin-converting enzyme inhibition and weight loss. *J Vasc Res.* 2013; 50(6):486-97. doi: 10.1159/000355221. Epub 2013 Oct 31
27. Ouviaña Susana et al 2004 *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2004; 38 (4): 471-6 Endotelina-1, óxido nítrico y factor von Willebrand en pacientes hipertensos diabéticos tipo 2
28. Stephen B. Williams. B, Jorge A. Cusco, Md. Iry-Anne Roddy, Michael T. Johnstone, Mark A. Creager. Impaired Nitric Oxide-Mediated Vasodilation in Patients with Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1996 Mar 1; 27(3):567-74
29. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A. Endothelial Dysfunction, Inflammation and Diabetes. *Rev Endocr Metabol Disord* 2004. 5:189-197.
30. Esteller A. Biología de la pared vascular y síndrome metabólico. *Nutr Hosp.* 2005; 20(1):5---17.26

31. Radi R. Reactions of nitric oxide with metallo proteins. *Chem Res Toxicol* 1996; 9:828-35.
32. Denicola A, Souza J, Radi R, Lissi E. Nitric oxide diffusion in membranes determined by fluorescence quenching. *Arch Biochem Biophys* 1996; 208-12.
33. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Revs* 1991; 43:109-141.
34. Jaiswal, M.; Schinske, A.; Pop-Busui, R. Lipids and lipid management in diabetes. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014, 28, 325–338.
35. Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial dysfunction in hypercholesterolaemia: mechanisms, pathophysiological importance, and therapeutic interventions. *Semin Thromb Hose.* 2000;26(5):529-37.
36. Baynes JW, Thorpe SR. Glycoxidation and lipoxidation in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(12):1708-16.
37. IDF (Federación Internacional de Diabetes). [En línea]. 2017. *Diabetes Atlas*. <http://diabetesatlas.org/>. Octava edición: 1 – 44.
38. American Diabetes Association. 2019 Standards of Medical Care in Diabetes. http://care.diabetesjournals.org/content/42/Supplement_1. Published December 17, 2018. Accessed December 17, 2018..
39. Consenso Nacional de Lípidos 2018.

ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDOCRINOLOGÍA
Y ENFERMEDADES METABÓLICAS
HOSPITAL MILITAR “DR. CARLOS ARVELO”

Consentimiento Escrito de Aceptación del Protocolo de Estudio

TÍTULO: EVALUACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES DIABÉTICOS Y SU CORRELACIÓN CON EL PERFIL LIPÍDICO.

Investigadores responsables: Dras. Sara Brito C.I., 4.557.468 Mary Lares C.I 8.842.814
María Emilia Hernández CI. 10.622.374

INTRODUCCIÓN.

La diabetes mellitus es un desorden metabólico con gran incidencia mundial, del que se ha registrado un incremento en la última década en Latinoamérica y Venezuela. La disfunción del endotelio vascular se considera un factor importante en la patogénesis de las complicaciones vasculares diabéticas y el estrés oxidativo ejerce un rol determinante en el desarrollo de las complicaciones de esta enfermedad.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

Evaluación de los niveles séricos de óxido nítrico en pacientes diabéticos y su correlación con el perfil lipídico y la oxidación. Se realizara un estudio descriptivo analítico y transversal, en 90 sujetos adultos de uno u otro sexo, distribuidos en tres grupos: Grupo 1 (n=22) Diabéticos de tipo 2 con dislipidemia; Grupo 2 (n=25) Diabéticos tipo 2 sin dislipidemia y Grupo 3 (n=25) Controles sanos. Se determinará: parámetros antropométricos (IMC, circunferencia de cintura), clínicos (tensión arterial) y de laboratorio: glucemia basal, perfil lípido (Colesterol, triglicéridos, HDL, LDL), creatinina, insulina, hemoglobina glicosilada y Óxido nítrico.

GARANTIA DE CONFIDENCIALIDAD

Solo el investigador y sus asociados, tendrán a los datos confidenciales que identifican al sujeto en estudio por su nombre. Su Identificación no aparece en ningún informe ni publicación, resultante del presente estudio.

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____, C.I. _____
venezolano, Mayor de edad y de este domicilio, hago contar que como padre y/o
representante de _____ autorizo a mi representado a
que participe de forma libre y voluntaria en la realización del trabajo Especial de
Investigación titulado: Evaluación de los niveles séricos de óxido nítrico en pacientes
diabéticos y su correlación con el perfil lipídico.

Comprendiendo la naturaleza de este estudio. Igualmente aseguro que se me ha
informado de los basamentos de la Investigación.

Fecha: _____

Firma: _____

Yo (investigador), _____, declaro que explique los
procedimientos, objetivos y riesgos del presente estudio; otorgue al paciente tiempo
suficiente para decidir su participación y aclare las dudas que surgieron.

Testigo:

Nombre: _____

C.I. _____

Testigo:

Nombre: _____

C.I. _____

ANEXO 3

REGISTRO DE DATOS

HISTORIA CLINICA

Nombres _____ Apellidos _____

Edad _____ Sexo _____

Dirección _____

Telf. _____

Antecedentes familiares diabetes tipo2: _____

Otros antecedentes familiares: _____

Personales:

Hábitos Tabaquicos: SI _____ NO _____ Dieta SI _____ NO _____

Ejercicio: SI _____ NO _____ Alcohol SI _____ NO _____

Examen físico

Peso _____ Talla _____ IMC _____ P < 90 _____ 90-

97 _____ >97 _____ TA _____

Examen Físico General _____

Paraclínicos:

Colesterol total: _____

HDL-c _____ LDL-c _____ VLDL _____ Triglicéridos _____

Glicemia basal: _____ Metabolitos de oxido nítrico: _____

ANEXO 4

Tabla 1. Caracterización de los grupos evaluados mostrándose los valores promedios y desviación estándar los parámetros evaluados.

	SANOS (n=25)	DIABÉTICOS SIN DISLIPIDEMIA	DIABÉTICOS CON DISLIPIDEMIA	P
Edad (años)	39,36 ± 9,3	50,52 ± 8,50	55,22 ± 6,46	< 0,001
Tiempo Diagnostico (años)	-	7,28 ± 3,90	8,00 ± 4,76	0,814
PESO (kg)	62,95 ± 7,33	76,72 ± 14,12	75,34 ± 14,74	< 0,001
TALLA (m)	1,64 ± 0,08	1,65 ± 0,09	1,65 ± 0,10	0,903
IMC (kg/cm ²)	23,13 ± 1,81	27,71 ± 3,18	27,26 ± 1,81	< 0,001
C. Cintura (cm)	76,82 ± 7,37	97,23 ± 14,27	100,31 ± 7,37	< 0,003
PAS (mm Hg)	117,80 ± 11,37	123,24 ± 9,61	125,04 ± 11,37	< 0,040
PAD (mm Hg)	81,00 ± 8,41	85,28 ± 8,27	86 ± 8,41	0,016
Colesterol (mg/dL)	159,20 ± 31,99	176,92 ± 26,87	196,63 ± 49,08	< 0,002
Triglicéridos (mg/dL)	80,84 ± 37,40	146,36 ± 47,23	174,54 ± 78,00	< 0,001
HDL (mg/dL)	54,92 ± 13,11	43,96 ± 10,88	39,14 ± 10,44	< 0,001
LDL (mg/dL)	88,36 ± 27,06	109,08 ± 35,86	121,09 ± 27,06	0,001
Glucemia (mg/dL)	79,72 ± 10,49	117,56 ± 33,31	123,59 ± 10,49	< 0,001
Ácido Úrico (mg/dL)	3,83 ± 0,93	4,66 ± 1,66	5,41 ± 0,93	< 0,001
Creatinina (mg/dL)	0,66 ± 0,13	0,87 ± 0,31	0,80 ± 0,19	0,006
HbA1c (%)	4,81 ± 0,76	7,00 ± 1,44	6,8 ± 0,76	< 0,001
Óxido Nítrico (μM)	17,90 ± 3,90	12,57 ± 0,40	11,77 ± 0,49	< 0,001

IMC: índice de masa corporal; C. Cintura: circunferencia de cintura; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; HbA1c: hemoglobina glicosilada;

ANEXO 5

Tabla 2. Comparación de los resultados para los parámetros determinados entre los grupos de Diabéticos sin dislipidemia y diabéticos con dislipidemia

	DIABÉTICOS SIN DISLIPIDEMIA	DIABÉTICOS CON DISLIPIDEMIA	P
N muestral	25	22	
Edad (años)	50,52 ± 8,50	55,22 ± 6,46	0,178
Tiempo Diagnostico (años)	7,28 ± 3,90	8,00 ± 4,76	0,737
Masculinos	60 % (n = 15)	68,18% (n = 15)	0,564
Femeninos	40 (n = 10)	31,18 % (n = 7)	
IMC (kg/cm²)	27,71 ± 3,18	27,26 ± 1,81	0,915
C. Cintura (cm)	97,23 ± 14,27	100,31 ± 7,37	0,624
PAS (mm Hg)	123,24 ± 9,61	125,04 ± 11,37	0,508
PAD (mm Hg)	85,28 ± 8,27	86 ± 8,41	0,513
Colesterol (mg/dL)	176,92 ± 26,87	196,64 ± 49,08	0,064
Triglicéridos (mg/dL)	146,36 ± 47,23	174,55 ± 78,00	0,424
HDL (mg/dL)	43,96 ± 10,88	39,14 ± 10,40	0,501
LDL (mg/dL)	109,08 ± 35,86	121,09 ± 27,06	0,638
Glucemia (mg/dL)	117,56 ± 33,31	123,59 ± 10,49	0,258
Ácido Úrico (mg/dL)	4,66 ± 1,66	5,41 ± 0,93	0,135
Creatinina (mg/dL)	0,87 ± 0,31	0,80 ± 0,19	0,639
HbA1c (%)	7,00 ± 1,44	6,8 ± 0,76	0,559
Oxido Nítrico (µM)	12,57 ± 0,40	11,77 ± 0,49	0,236

IMC: índice de masa corporal; C. Cintura: circunferencia de cintura; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; HbA1c: hemoglobina glicosilada.

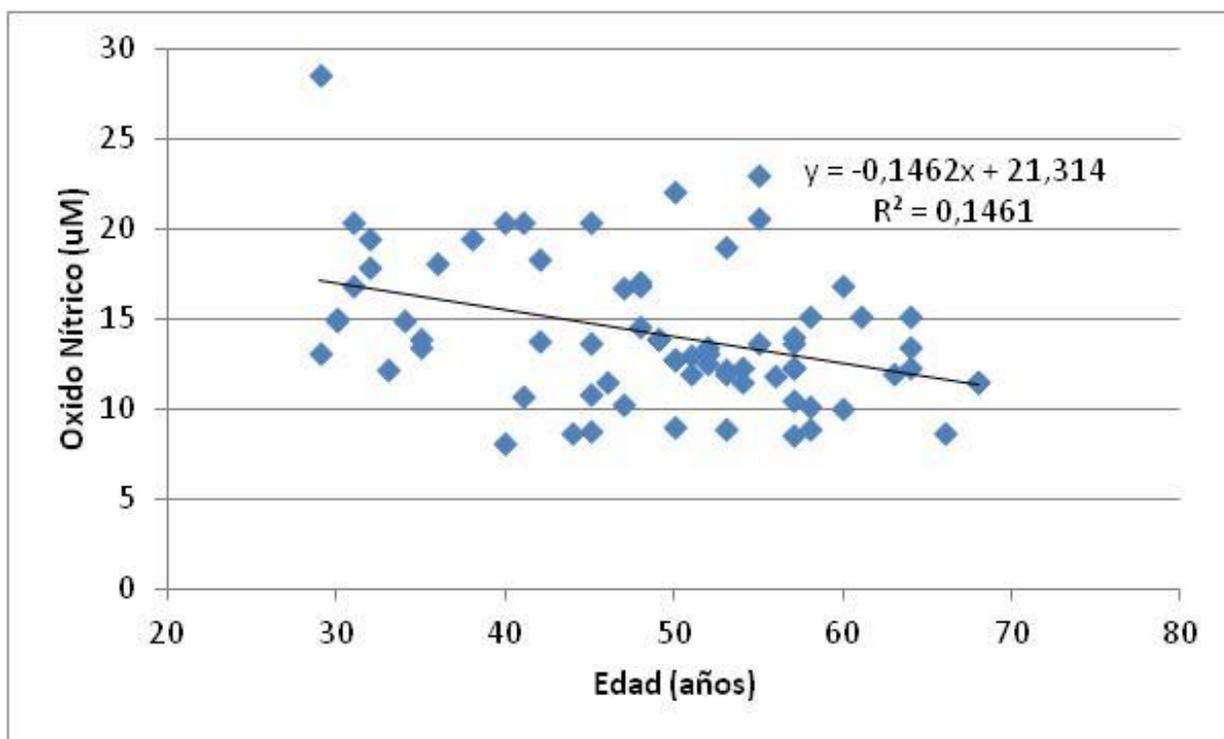
ANEXO 6

Tabla 3. Correlación simple y regresión múltiple de los parámetros que presentaron significancia estadística en la correlación con el óxido nítrico.

	Correlación Simple		Regresión Múltiple	
	R	p	β	p
Edad	-0,355	0,002	0,237	0,385
Peso	-0,307	0,009	0,763	0,474
IMC	-0,354	0,002	-0,801	0,443
C. Cintura	-0,355	0,004	-0,802	0,73
PAS	-0,331	0,005	-0,839	0,434
Colesterol	-0,369	0,001	-	-
LDL	-0,375	0,001	-0,616	0,169
Glicemia	-0,400	0,000	0,217	0,835
Ácido Úrico	-0,304	0,009	-0,931	0,388
HBA1c	-0,345	p = 0,019	-0,626	0,554

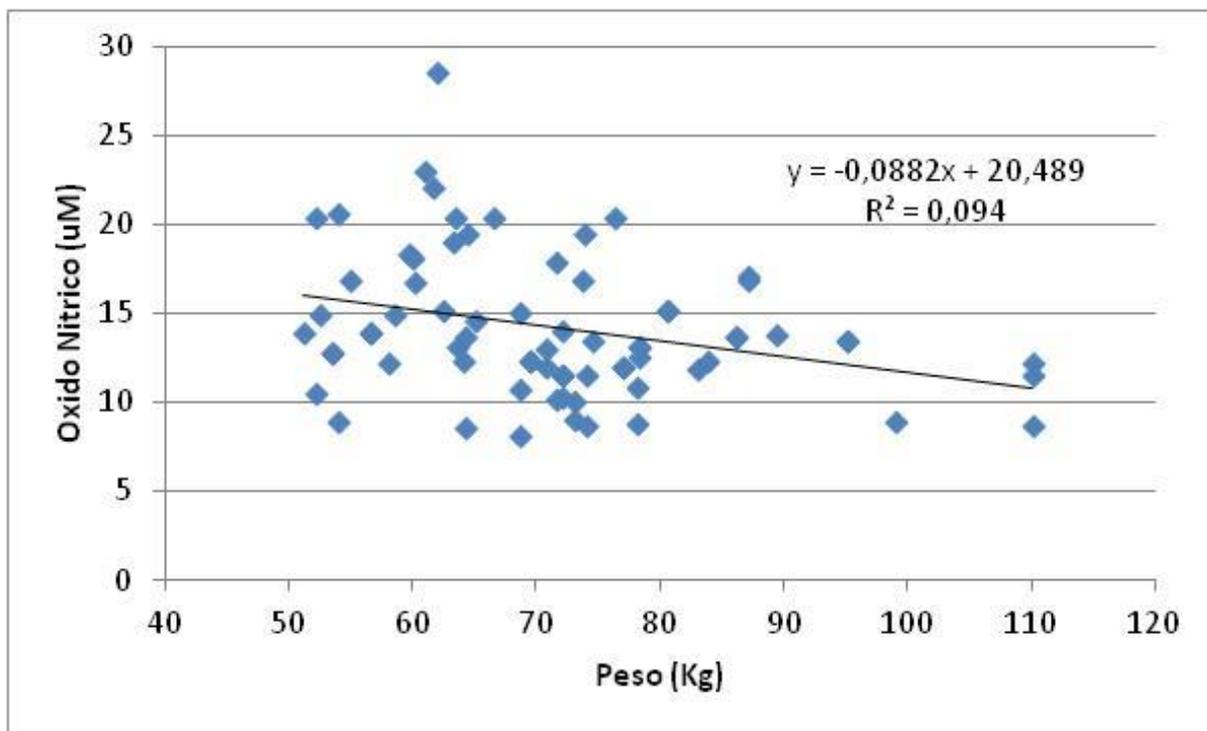
ANEXO 7

Grafico 1. Relación entre la edad en años y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



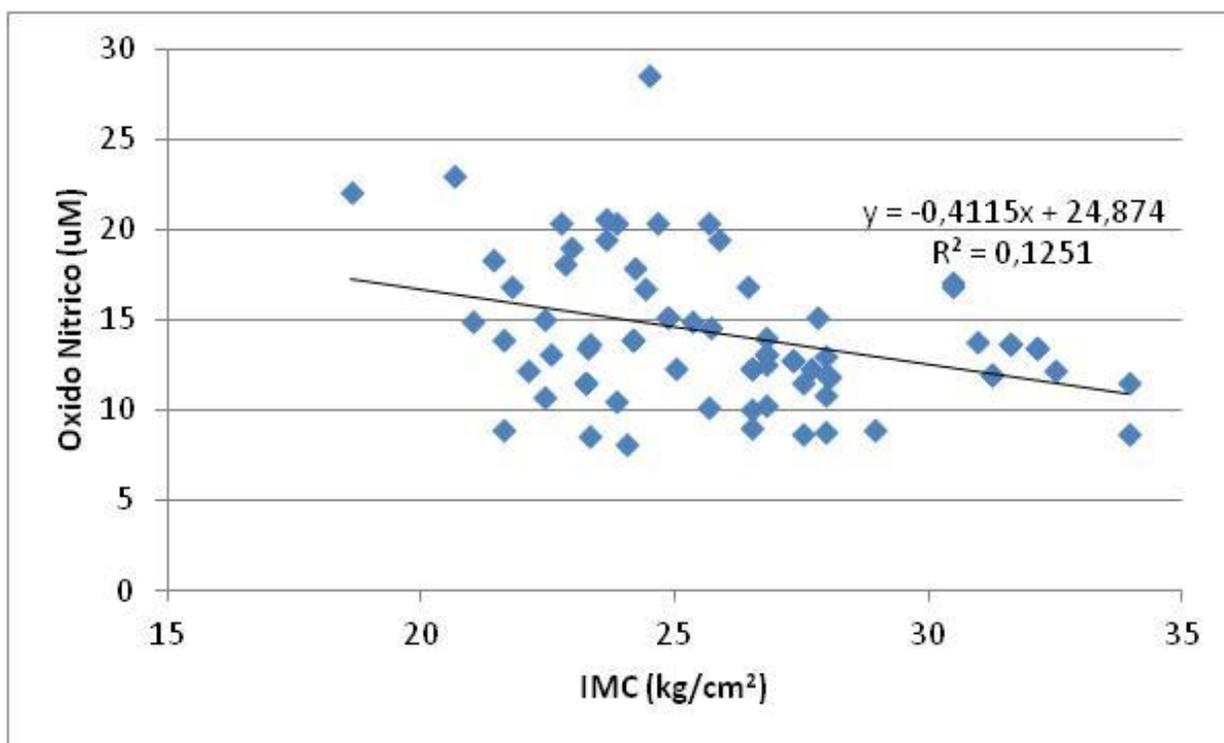
ANEXO 8

Grafico 2. Relación entre el peso en kilogramos y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



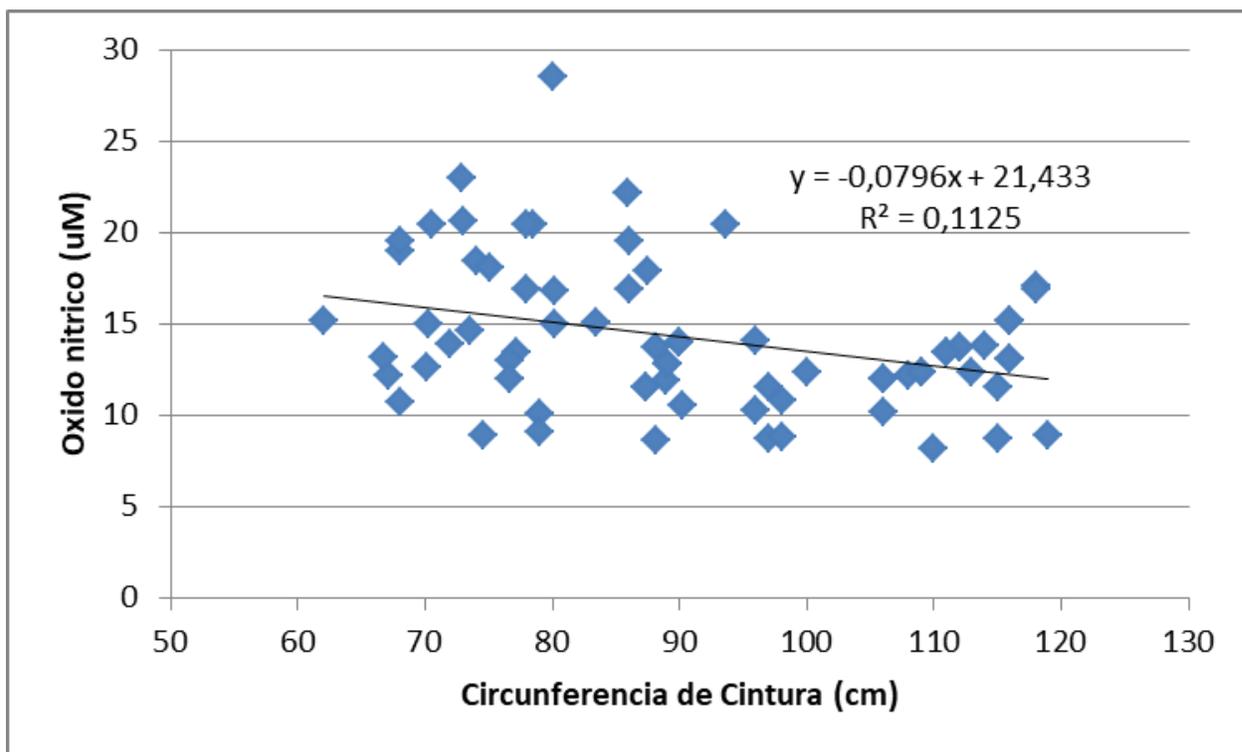
ANEXO 9

Grafico 3. Relación entre el Índice de Masa Corporal y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



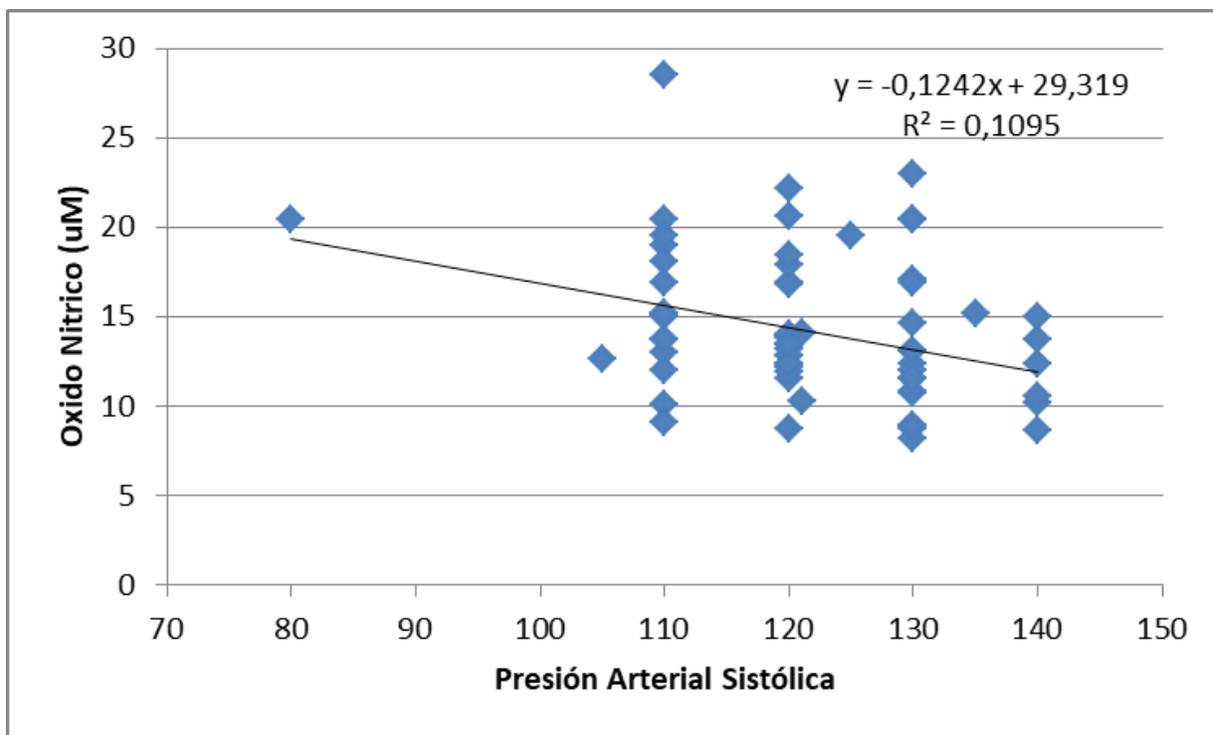
ANEXO 10

Grafico 4. Relación entre el Índice de Masa Corporal y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



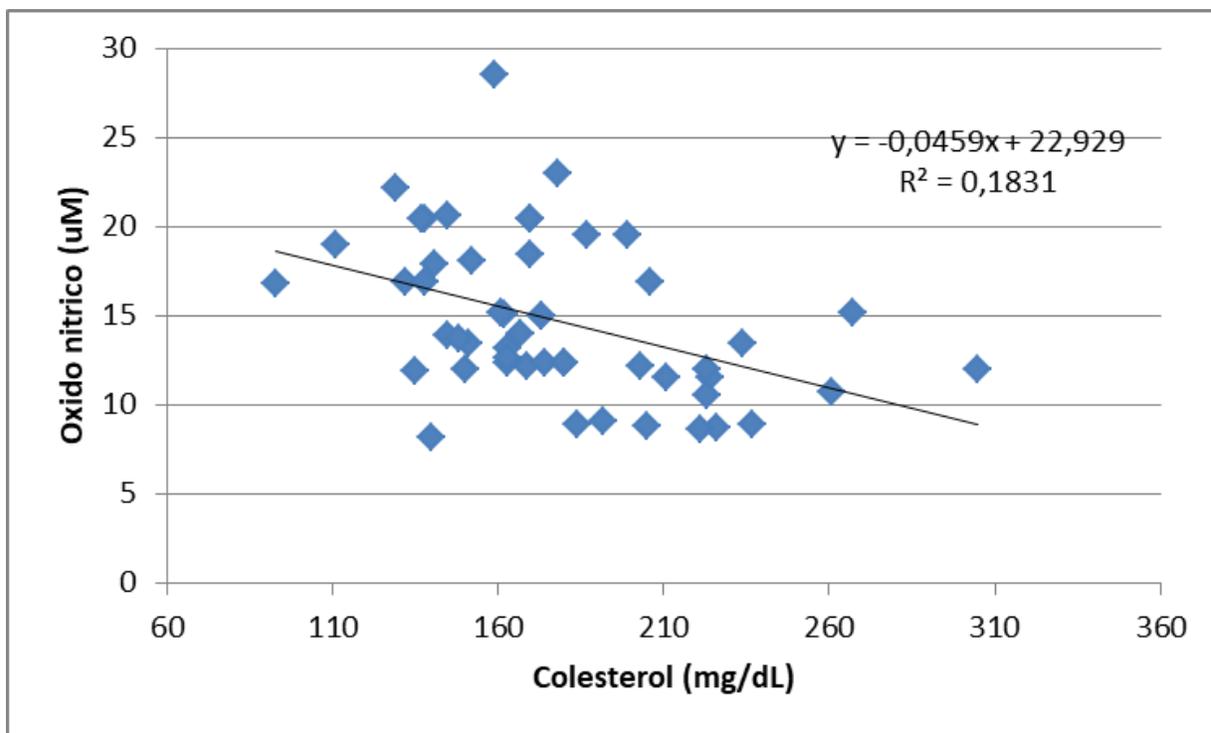
ANEXO 11

Grafico 5. Relación entre la Presión Arterial Sistólica (PAS) y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



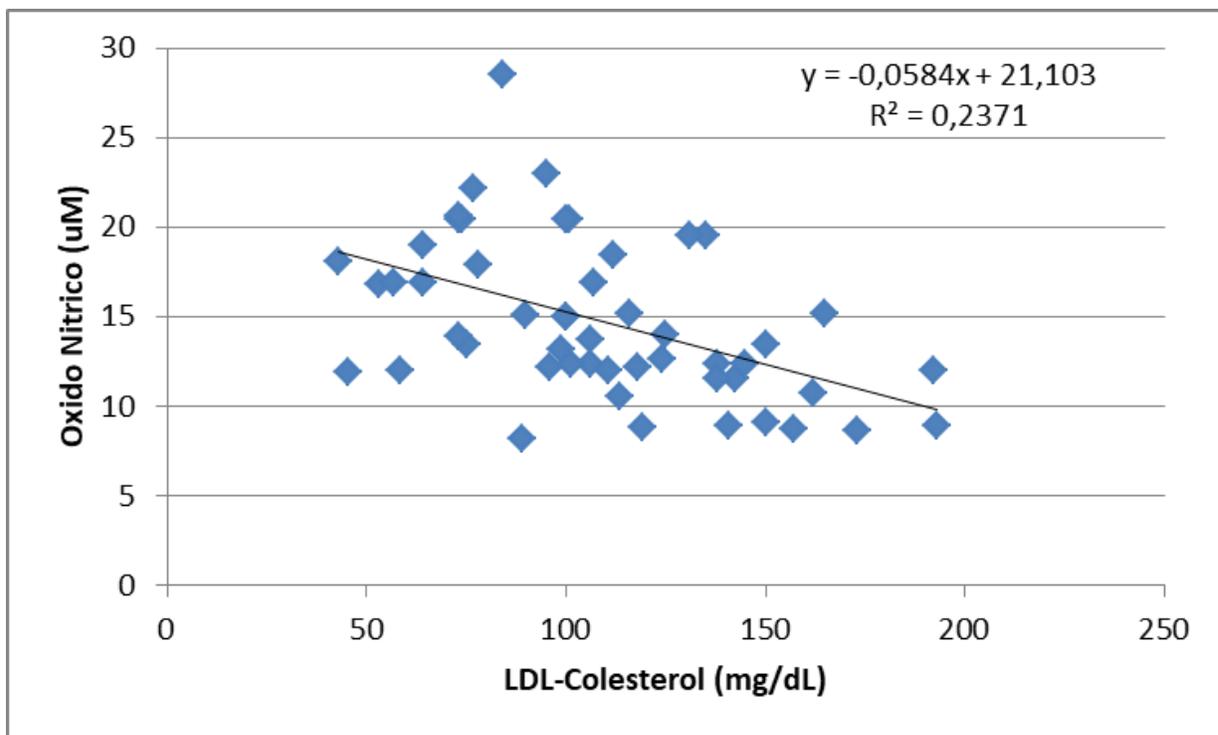
ANEXO 12

Grafico 6. Relación entre el Colesterol total y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



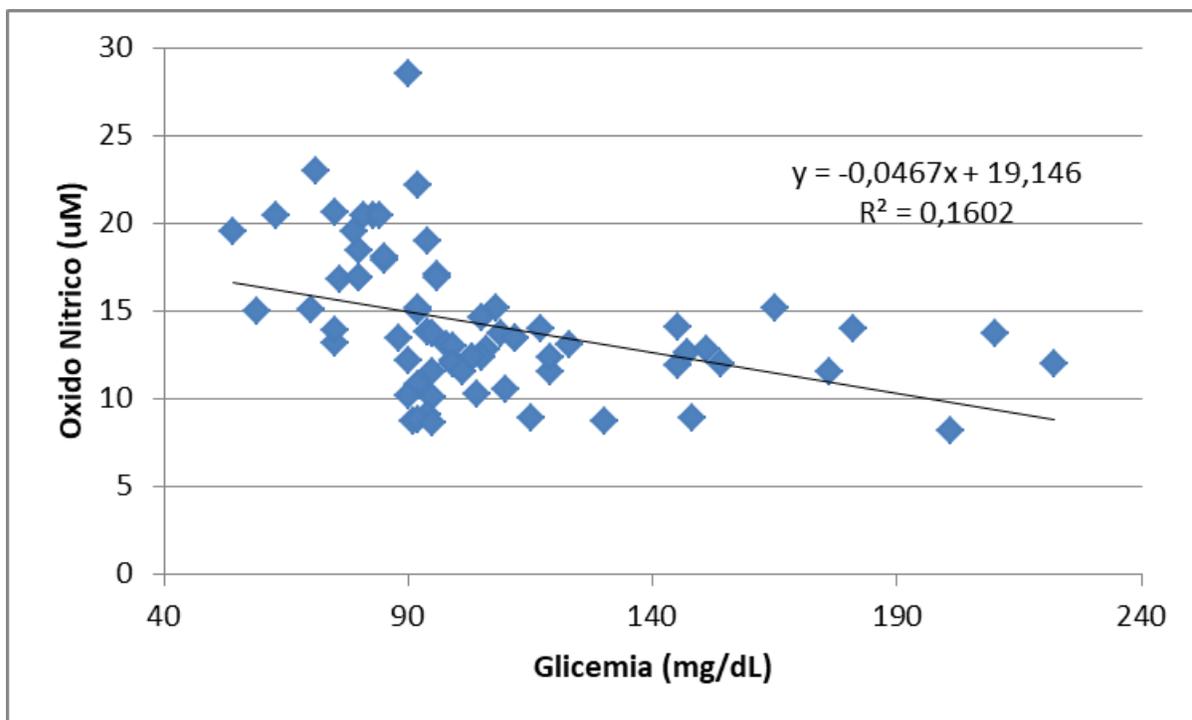
ANEXO 13

Grafico 7. Relación entre el Colesterol de las LDL y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



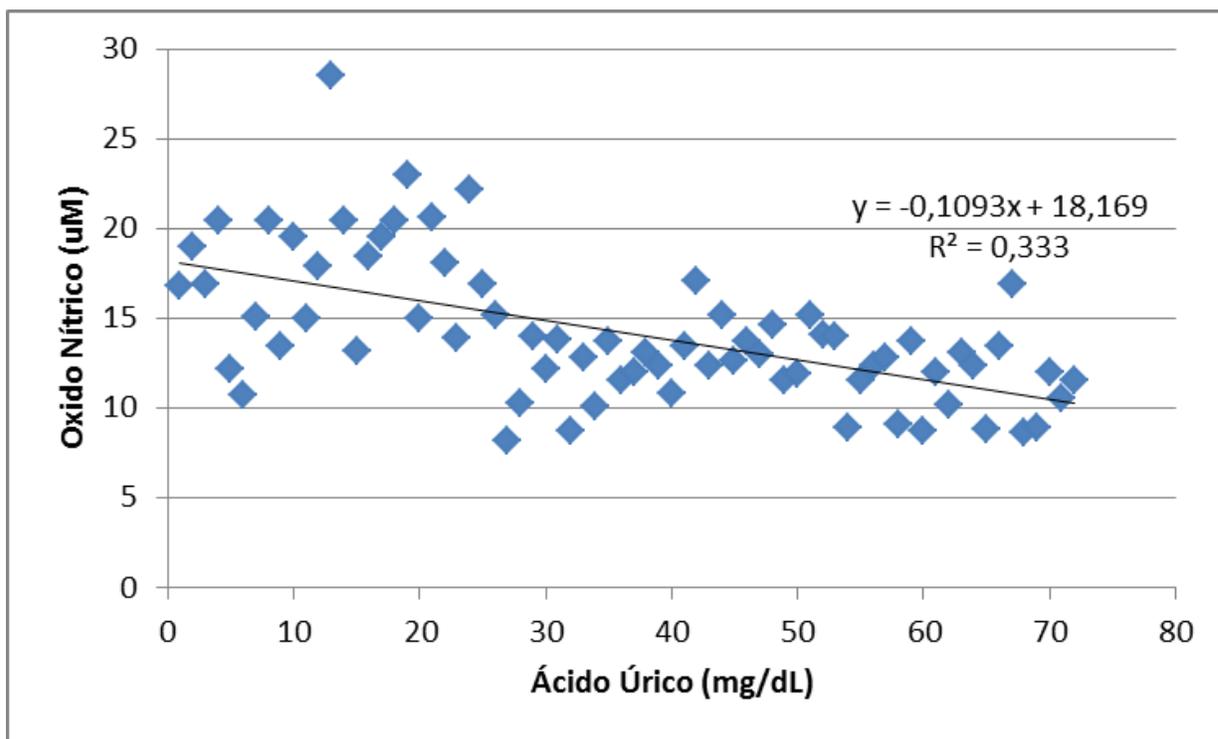
ANEXO 14

Grafico 8. Relación entre la Glicemia en ayunas y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



ANEXO 15

Grafico 9. Relación entre el Ácido úrico y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.



ANEXO 16

Grafico 10. Relación entre la Hemoglobina Glicosilada (HbA1c) y los valores de óxido nítrico para el conjunto de pacientes evaluados.

