

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ALTERACIONES PRESORAS, METABÓLICAS Y
VASCULARES PRODUCIDAS POR UNA DIETA
RICA EN FRUCTOSA EN LA RATA.
CONSECUENCIAS DEL TRATAMIENTO
ANTIHIPERTENSIVO**



* 5 3 0 9 8 4 1 2 5 1 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TESIS DOCTORAL

ELENA RODRIGO SERRANO

Madrid, 1998



ARCHIVO

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

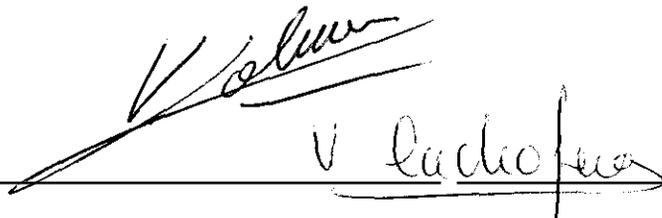
**ALTERACIONES PRESORAS, METABÓLICAS Y VASCULARES
PRODUCIDAS POR UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA EN LA
RATA. CONSECUENCIAS DEL TRATAMIENTO
ANTIHIPERTENSIVO**

Memoria presentada por:
ELENA RODRIGO SERRANO
para la obtención del grado de Doctor

Vº Bº de los Directores de la Tesis



Elena Rodrigo Serrano



Vicente Lahera Juliá

Mª Victoria Cachafeiro Ramos

Madrid, 1998

VICENTE LAHERA JULIÁ, Profesor Titular del Departamento de Fisiología Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, y

M^a VICTORIA CACHOFEIRO RAMOS, Profesora Titular del Departamento de Fisiología Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICAN: que el presente trabajo titulado: “Alteraciones presoras, metabólicas y vasculares producidas por una dieta rica en fructosa en la rata. Consecuencias del tratamiento antihipertensivo”, llevado a cabo por Dña. Elena Rodrigo Serrano ha sido realizado bajo nuestra dirección.

Creemos que el mencionado trabajo reúne las características necesarias para ser defendido ante un Tribunal para la obtención del grado de Doctor.

Y para que conste donde proceda, firmamos el presente certificado en Madrid a 9 de Marzo de mil novecientos noventa y ocho.



Vicente Lahera Juliá



M^a Victoria Cachofeiro Ramos

A mis padres

A Paco

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento:

A los directores de esta tesis, Vicente Lahera y Victoria Cachofeiro, por todo el apoyo que me han ofrecido en la realización de este trabajo y el ejemplo que ha supuesto para mi su buena labor científica.

A la Dra. M^a Paz Nava por su amabilidad al aceptar la tutoría de esta tesis.

A mis compañeras Rosaura y Raquel, por hacer que las horas de trabajo fuesen más agradables, por haber compartido tantas cosas conmigo y por darme algo tan valioso como su amistad.

A Pepa Navarro con la que he colaborado todos estos años en el laboratorio.

A todos los profesores del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina.

A los becarios del Departamento: Gelo, Marian, Blanca, Anabel, Lourdes, Raúl, por hacer tan amenas las horas compartidas en el laboratorio, en el comedor y como no, en las "fiestecillas" del pasillo.

A los técnicos y ayudantes de laboratorio, la entrañable Luci, Blanca, Antonio y Juanjo.

A mis amigos: César, Ana, Emma, Jose, Gloria....., ajenos al laboratorio, por lo mucho que me han animado a la hora de realizar este trabajo, por lo mucho que lo han "sufrido" y por el apoyo que supone para mi saber que siempre estaréis ahí.

A mi familia, mis hermanos y en especial a mis padres que me han ayudado tanto con su apoyo, cariño y comprensión en la realización de este trabajo.

Y por último, quiero dar mi agradecimiento a Paco por su apoyo incondicional, por todo lo que me ha soportado, por estar siempre a mi lado y por ser como es.

**ABREVIATURAS
Y ACRÓNIMOS**

6-ceto-PGF _{1α} :	6-ceto prostaglandina F _{1α}
A (1-7):	Angiotensina 1-7
A23187:	Ionóforo de calcio
ADH:	Hormona antidiurética
ADN:	Acido desoxiribonucleico
AI:	Angiotensina I
AII:	Angiotensina II
AMPc:	Adenosin monofosfato cíclico
ARN:	Acido ribonucleico
AT ₁ , AT ₂ :	Receptores de AII
bFGF:	Factor de crecimiento básico de fibroblastos
CGEI:	Captación de glucosa estimulada por insulina
DM:	Diabetes mellitus
ECA:	Enzima convertidora de angiotensina
eem:	Error estándar de la media
ET-1:	Endotelina 1
FCDE:	Factor constrictor derivado del endotelio
FHDE:	Factor hiperpolarizante dependiente del endotelio
GH:	Hormona de crecimiento
GluT:	Transportadores de glucosa
HDL:	Lipoproteínas de alta densidad
HMGCoA:	Hidroxi metil glutaril coenzima A
IDDM:	Diabetes mellitus dependiente de insulina
IECAs:	Inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina
IGF-I:	Factor de crecimiento "insulin-like growth factor"
KCl:	Cloruro potásico
LDL:	Lipoproteínas de baja densidad
LNAME:	N ^G -nitro-L- arginina metil ester
LVM:	Lechos vasculares mesentéricos
NIDDM:	Diabetes mellitus no dependiente de insulina
NO:	Oxido nítrico
PE:	Fenilefrina
PDGF:	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
PGE ₂ :	Prostaglandina E ₂
PGH ₂ :	Prostaglandina H ₂
PGI ₂ :	Prostaciclina
PGs:	Prostaglandinas
SHR:	Rata espontáneamente hipertensa
SI:	Secreción de insulina
SNC:	Sistema nervioso central
SNP:	Sistema nervioso simpático
SRA:	Sistema renina angiotensina
TGF α:	Factor de crecimiento de transformación
TXA ₂ :	Tromboxano A ₂
VEGF:	Factor de crecimiento derivado del endotelio vascular
VLDL:	Lipoproteínas de muy baja densidad
WKY:	Wistar-kyoto

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- ANTECEDENTES.....	3
1.2.- INSULINA: SÍNTESIS, ACCIONES Y REGULACIÓN.....	4
1.2.1.- Síntesis y secreción de insulina.....	4
1.2.2.- Mecanismos de acción de la insulina.....	5
1.2.3.- Acciones de la insulina.....	8
1.2.3.1.- Acciones de la insulina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.....	8
1.2.3.2.- Acciones de la insulina sobre el metabolismo lipídico.....	11
1.2.3.3.- Acciones de la insulina sobre el metabolismo de las proteínas.....	12
1.2.4.- Regulación de la secreción de insulina.....	13
1.3.- RESISTENCIA A LA INSULINA E HIPERINSULINISMO.....	15
1.3.1.- Sensibilidad a la acción de la insulina: conceptos de resistencia a la insulina e hiperinsulinismo.....	15
1.3.2.- Tipos de resistencia a la insulina.....	18
1.3.3.- Métodos de determinación de la resistencia a la insulina.....	19
1.3.3.1.- Técnica del clamp hiperinsulinémico-normoglucémico.....	19
1.3.3.2.- Test de sobrecarga oral de glucosa.....	20
1.3.3.3.- Test de sobrecarga intravenosa de glucosa.....	20

1.4. - FACTORES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	21
1.4.1.- Aumento de la reabsorción tubular de sodio.....	22
1.4.2.- Hiperactividad nerviosa simpática.....	23
1.4.3.- Aumento de la actividad del sistema renina-angiotensina (SRA).....	24
1.4.4.- Disfunción endotelial.....	27
1.4.5.- Otras hormonas implicadas en la hipertensión.....	29
1.4.6.- Alteraciones estructurales de la pared vascular.....	30
1.5. - INTERRELACIONES ENTRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y LA HIPERTENSIÓN.....	32
1.5.1.- Mecanismos por los que el hiperinsulinismo puede causar hipertensión.....	33
1.5.1.1.- Alteraciones de la membrana del músculo liso vascular.....	34
1.5.1.2.- Efecto estimulador del sistema nervioso simpático.....	36
1.5.1.3.- Efecto del sistema renina-angiotensina.....	38
1.5.1.4.- Efectos sobre la pared vascular.....	39
1.5.1.5.- Efecto de la retención de sodio a nivel renal.....	40
1.6. - INTERRELACIONES ENTRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y OTRAS PATOLOGÍAS.....	41
1.6.1.- Dislipidemia y aterosclerosis.....	41
1.6.2.- Diabetes mellitus.....	43
1.6.3.- Obesidad.....	45

1.7.- EFECTOS DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA.....	47
2.- OBJETIVOS.....	53
3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	57
3.1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	59
3.2.- COMPOSICIÓN DE LA DIETA.....	59
3.3.- MÉTODOS EXPERIMENTALES.....	60
3.3.1.- Medida de la presión arterial.....	60
3.3.2.- Recogida de muestras.....	61
3.3.2.1.- Medida del volumen urinario y del volumen de bebida.....	61
3.3.2.2.- Obtención del plasma sanguíneo.....	61
3.3.3.- Determinaciones analíticas.....	62
3.3.3.1.- Medida de la excreción urinaria de sodio y potasio.....	62
3.3.3.2.- Medida del aclaramiento de creatinina plasmática.....	62
3.3.3.3.- Determinación de los parámetros metabólicos.....	63
3.3.3.4.- Determinación de los factores hormonales vasoactivos.....	63
3.3.4.- Test de sobrecarga oral de glucosa.....	64
3.4.- ESTUDIOS DE REACTIVIDAD VASCULAR.....	64
3.4.1.- Preparación de los lechos mesentéricos.....	64
3.4.2.- Preparación de los anillos de aorta.....	65

3.5.- SOLUCIONES Y FÁRMACOS UTILIZADOS.....	67
3.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	68
DISEÑOS EXPERIMENTALES.....	69
3.7.- ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR LA ADMINISTRACIÓN DE UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA EN RATAS.....	69
3.7.1.- Presión arterial.....	70
3.7.2.- Función renal.....	70
3.7.3.- Factores metabólicos y test de sobrecarga oral de glucosa.....	70
3.7.4.- Factores hormonales vasoactivos.....	71
3.7.5.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos.....	71
3.7.5.1.- Estudio de la respuesta vasoconstrictora.....	71
3.7.5.2.- Estudio de la respuesta vasodilatadora.....	72
3.7.6.- Reactividad vascular en anillos de aorta.....	72
3.7.6.1.- Estudio de la respuesta vasoconstrictora.....	72
3.7.6.2.- Estudio de la respuesta vasodilatadora.....	73
3.8.- ESTUDIO DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO EN RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA.....	74
3.8.1.- Presión arterial.....	75
3.8.2.- Función renal.....	75
3.8.3.- Factores metabólicos y test de sobrecarga oral de glucosa.....	75
3.8.4.- Factores hormonales vasoactivos.....	76
3.8.5.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos.....	76
3.8.5.1.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasoconstrictora.....	76

3.8.5.2.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasodilatadora.....	77
3.8.6.- Reactividad vascular en anillos de aorta.....	77
3.8.6.1.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasoconstrictora.....	77
3.8.6.2.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasodilatadora.....	78
4.- RESULTADOS.....	79
4.1.- CONSECUENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN CON UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA EN RATAS.....	81
4.1.1.- Presión arterial.....	81
4.1.2.- Función renal.....	81
4.1.3.- Factores metabólicos.....	82
4.1.4.- Test de sobrecarga oral de glucosa.....	82
4.1.5.- Factores hormonales vasoactivos.....	83
4.1.6.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos.....	88
4.1.6.1.- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta vasoconstrictora.....	88
4.1.6.2.- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta vasodilatadora.....	88
4.1.7.- Reactividad vascular en anillos de aorta.....	93
4.1.7.1.- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta a distintos agentes vasoconstrictores.....	93
4.1.7.2.- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta vasodilatadora.....	94

4.2.- EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO EN RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA.....	100
4.2.1.- Presión arterial.....	100
4.2.2.- Función renal.....	100
4.2.3.- Factores metabólicos.....	104
4.2.4.- Test de sobrecarga oral de glucosa.....	104
4.2.5.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos.....	109
4.2.5.1.- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasoconstrictora en ratas alimentadas con fructosa.....	109
4.2.5.2.- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasodilatadora en ratas alimentadas con fructosa.....	110
4.2.6.- Reactividad vascular en anillos de aorta.....	117
4.2.6.1.- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasoconstrictora en ratas alimentadas con fructosa.....	117
4.2.6.2.- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasodilatadora en ratas alimentadas con fructosa.....	119
5.- DISCUSIÓN.....	129
5.1.- - PRESIÓN ARTERIAL, HIPERINSULINEMIA Y RESISTENCIA A LA INSULINA.....	132
5.2.- FUNCIÓN RENAL.....	146
5.3.- METABOLISMO LIPÍDICO.....	151
5.4.- SISTEMAS VASOACTIVOS.....	154
5.5.- REACTIVIDAD VASCULAR.....	157

6.- CONCLUSIONES.....167

7.- BIBLIOGRAFÍA.....171

INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES

Reaven en 1988, sugirió que la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo estaban implicadas en la etiología de enfermedades como la diabetes mellitus tipo II y la hipertensión esencial. Este autor denominó “síndrome X” a un conjunto de alteraciones metabólicas como son la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa, el hiperinsulinismo, el aumento de triglicéridos en VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), la reducción de colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad) y la hipertensión. Más tarde, se añadió la obesidad central al conjunto de alteraciones que forman parte del síndrome X (Bjorntorp, 1988). Reaven propuso que la resistencia a la insulina era la causa común que originaba el resto de las alteraciones del síndrome X. En numerosos pacientes con diabetes mellitus, obesidad e hipertensión aparecen estas alteraciones. Christlieb y cols. en 1981 observaron que muchos de los pacientes con diabetes mellitus presentaban elevados niveles de presión arterial. De hecho, la aparición de la hipertensión arterial en el seno de la diabetes mellitus es dos veces más frecuente en los pacientes diabéticos que en los no diabéticos (Simonson, 1988). Asimismo, la existencia de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono es mucho más común en los pacientes hipertensos con y sin tratamiento hipotensor que en los no hipertensos. Por otro lado, la hipertensión también aparece de manera frecuente en individuos obesos (Chiang y cols., 1969). Para entender mejor el papel de la insulina en la aparición del resto de las alteraciones que forman parte del síndrome X analizaremos, a continuación, los efectos fisiológicos de la insulina.

1.2.- INSULINA: SÍNTESIS, ACCIONES Y REGULACIÓN

1.2.1.- Síntesis y secreción de insulina

La insulina es un polipéptido de 11500 D que consta de una cadena A y una cadena B de 21 y 30 aminoácidos respectivamente (Stein, 1993). Las dos cadenas del dímero están unidas por un par de enlaces disulfuro. En comparación con otras proteínas, la estructura de la insulina ha permanecido relativamente poco alterada a lo largo de la evolución. Así, la insulina humana y la de otros mamíferos son muy parecidos tanto por lo que respecta a su secuencia de aminoácidos como a su potencial biológico, así la insulina de distintos mamíferos se utilizan como terapia de sustitución para la diabetes mellitus, además los individuos que se hacen resistentes a la insulina de una especie animal normalmente responden a la insulina de otro origen. A su vez los receptores de insulina de especies tan dispares como peces, anfibios y diversos mamíferos, entre ellos el hombre, son idénticos en sus propiedades fisico-químicas y en su capacidad de reconocer la estructura hormonal. Por lo tanto, es de suponer que los receptores de la insulina han mantenido una destacada constancia a través de más de 400 años de evolución (De Meyts y cols., 1975).

La insulina se sintetiza en las células β de los islotes pancreáticos a partir de una molécula de *proinsulina*, con dos cadenas que están unidas por un péptido de conexión, que en humanos consta normalmente de 31 aminoácidos (Figura 1). Los estudios sobre la traducción del ARN mensajero de la insulina han demostrado que la *proinsulina* deriva, a su vez, de una *preproinsulina* precursora. Tras la escisión de una secuencia de 23 aminoácidos del C-terminal, la estructura de la *proinsulina* se dobla sobre si misma para proporcionar la unión disulfuro entre las dos presuntas cadenas individuales. La proinsulina así formada, es transferida al aparato de Golgi, donde se forman los gránulos de secreción. En el momento de su secreción, la proinsulina, es dividida por acción de una proteasa, en cantidades equimoleculares de insulina y péptido C.

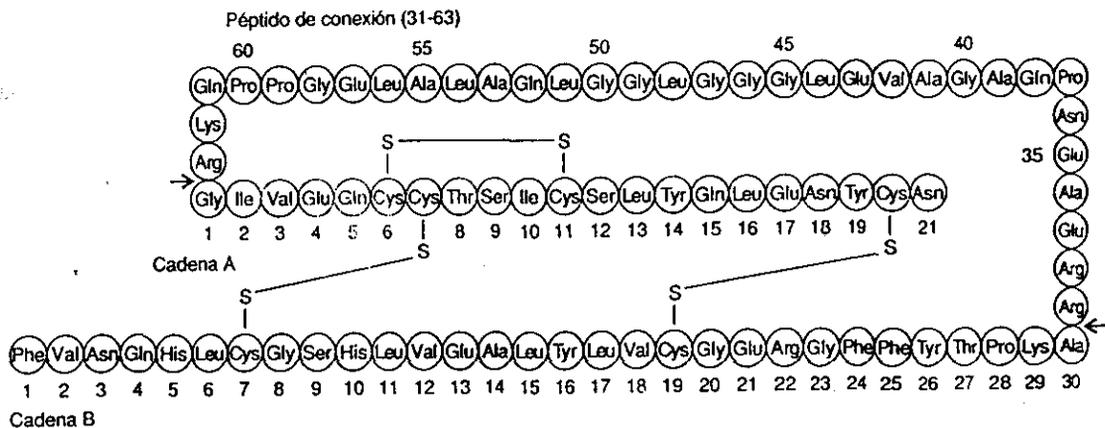


Figura 1.- Estructura primaria de la proinsulina.

Fisiológicamente, la proinsulina puede constituir hasta un 15% de la secreción de la célula β , y su actividad biológica es, aproximadamente 1/20 de la insulina. La secreción de insulina se produce tras la migración de los gránulos secretorios maduros, guiados por microtúbulos. Alrededor del gránulo, se forma un retículo de filamentos de actina, que se contraen al aumentar la concentración citosólica de calcio, dando lugar a la exocitosis del contenido del gránulo (Gerich y cols., 1976).

1.2.2.- Mecanismos de acción de la insulina

La acción de la insulina es mediada por un receptor glicoprotéico de membrana, heterotetramérico de alta afinidad, formado por dos subunidades α extracelulares y dos subunidades β transmembranarias, unidas por puentes disulfuro. Ambas subunidades derivan de un polipéptido precursor común y están glucosiladas en sus formas nativas. Su estructura ha sido deducida por clonación y su gen se asemeja estructural y funcionalmente a los oncogenes

del tipo tirosin-quinasa (Ullrich y cols., 1985), (Figura 2). Las subunidades α proporcionan los lugares de unión de la insulina y son completamente extracelulares, estando ancladas mediante uniones covalentes a las subunidades β . La subunidad β es una proteína transmembrana con dominios globulares en ambas superficies, la extracelular y la citosólica.

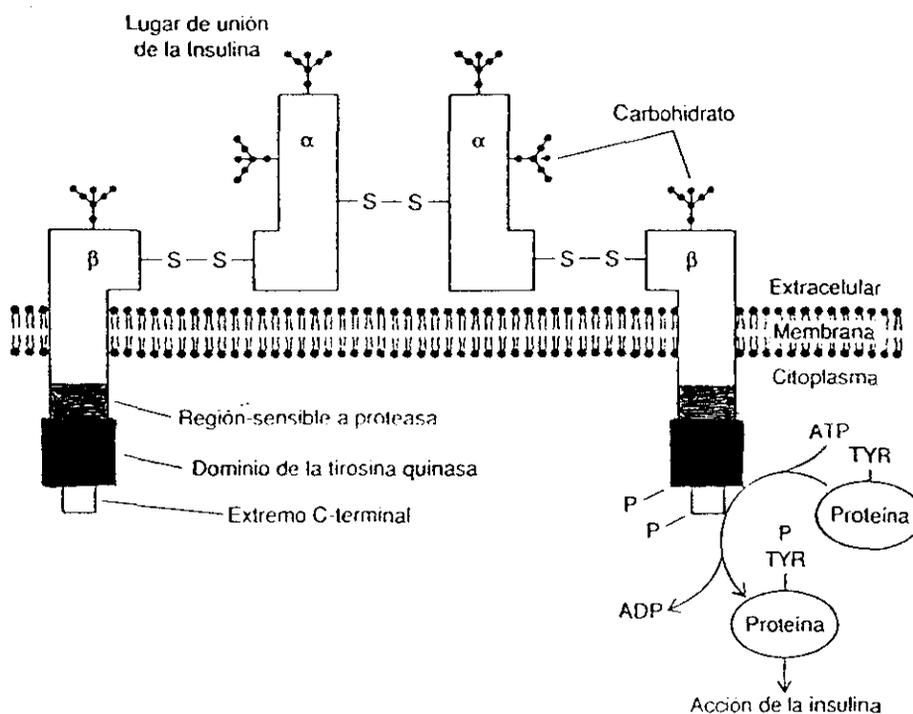


Figura 2.- Diagrama de la estructura del receptor de insulina.

La unión de la insulina a las subunidades α produce un cambio de configuración de las unidades β , que les permite actuar como tirosin-quinasa, autofosforilándose en residuos específicos de tirosina, lo que aumenta su poder catalítico, dando lugar a fosforilación de residuos de tirosina en múltiples substratos intracelulares, algunos de ellos con actividad protein-quinasa, dando lugar a una cascada de fosforilaciones y defosforilaciones que conlleva a la modulación (independiente de AMPc) de la actividad de múltiples enzimas y sistemas metabólicos, así como a modificaciones del flujo iónico de membrana. De este modo, las acciones de la insulina son mediadas por la generación de múltiples segundos mensajeros intracelulares incluyendo péptidos y fosfolípidos (Kelly y cols., 1987). La unión de la insulina y

la fosforilación del receptor parecen ser acontecimientos necesarios para desencadenar la acción de la hormona.

El complejo insulina-receptor sufre finalmente endocitosis, que conduce a la proteólisis de la insulina y al reciclamiento o a la degradación del receptor. La exposición a la insulina favorece la degradación del receptor, por lo que en situaciones de hiperinsulinismo el número de receptores está disminuido; esto es, se produce regulación negativa del receptor (Kalant y cols., 1984). Las estructuras involucradas en la endocitosis parecen ser relativamente no específicas y similares para muchas otras hormonas peptídicas. La insulina se localiza inicialmente sobre la superficie celular en cavidades revestidas, que se invaginan, se funden y se separan para formar vesículas revestidas, que se transforman en estructuras más grandes llamadas endosomas. La acidificación de éstos facilita la disociación del complejo ligando-receptor, permitiendo que ambos sean procesados independientemente.

La homeostasis de la glucosa implica la incorporación de la glucosa por el hígado, el músculo, las células adiposas y el cerebro así como la liberación a la sangre de la glucosa almacenada en el hígado como glucógeno o sintetizada *de novo* por la gluconeogénesis hepática. Un elemento clave en la regulación de los niveles sanguíneos de glucosa es la detección de la glucosa del ambiente por las células α y β de los islotes pancreáticos y la consiguiente secreción, bien de glucagón, que estimula la liberación de glucosa desde el hígado, o bien de insulina, que induce su almacenamiento en el hígado y estimula su captación por las células musculares y adiposas. Estos mecanismos de incorporación, liberación y percepción de glucosa necesitan la presencia de proteínas de membrana conocidas como transportadores de glucosa. En los tejidos periféricos, resulta de especial importancia la estimulación por insulina de la translocación de los transportadores de glucosa desde el retículo endoplásmico a la membrana celular, puesto que la captación de glucosa es el paso limitante de todo el metabolismo intracelular de glucosa y depende de dichos transportadores. Se han identificado al menos 5 transportadores de glucosa (GluT) en diferentes sistemas celulares. Los miocitos y los adipocitos poseen el GluT4, cuya expresión en membrana es dependiente de insulina. Se ha descrito la existencia de una proteína mensajera que es fosforilada por el

complejo insulina-receptor que es la que activa la expresión del GluT4. En la situación de resistencia insulínica, se sabe que la cantidad de transportador GluT4 es normal, pero falla el mecanismo de expresión en la membrana (Mueckler y cols., 1990).

1.2.3.- Acciones de la insulina

1.2.3.1.- Acciones de la insulina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono

Inmediatamente después de una comida rica en hidratos de carbono, la glucosa que pasa a la sangre produce una secreción rápida de insulina que, a su vez, determina la captación inmediata, el almacenamiento y el uso de la glucosa por casi todos los tejidos del organismo, en especial por el músculo, el hígado y el tejido adiposo.

El tejido muscular depende de los ácidos grasos, más que de la glucosa, para conseguir su energía durante la mayor parte del día. Además, la membrana celular del músculo en reposo es casi impermeable a la glucosa, excepto cuando la fibra muscular es estimulada por la insulina. Sin embargo, existen dos condiciones fisiológicas en las que los músculos utilizan gran cantidad de glucosa para obtener energía. Una de ellas es el ejercicio intenso y por efecto de la propia contracción las fibras musculares se hacen, en extremo, permeables a la glucosa por lo que no se requieren grandes cantidades de insulina (Park, 1959). La segunda circunstancia en la que el músculo utiliza grandes cantidades de glucosa es dos ó tres horas después de una comida. En este periodo la glucemia es muy alta; asimismo, el páncreas está secretando gran cantidad de insulina para favorecer el transporte de glucosa al interior de las células musculares. Durante este intervalo, la célula muscular utiliza hidratos de carbono en vez de ácidos grasos, ya que la liberación de éstos desde el tejido adiposo se encuentra inhibida por la propia insulina (Hedekov CJ, 1980; Fain, 1984). Cuando después de una comida los músculos no se ejercitan, gran parte de la glucosa que se está transportando al interior de las células musculares se almacena en forma de glucógeno muscular, que más tarde podrá utilizarse como energía muscular.

La glucosa absorbida después de una comida se almacena casi de inmediato en el hígado en forma de glucógeno. Cuando la glucemia comienza a disminuir y no se dispone de insulina, como ocurre entre las comidas, el glucógeno hepático es liberado en forma de glucosa hacia la sangre, para evitar un descenso mayor en la glucemia. Por tanto, en primer lugar la insulina causa la captación y el depósito de la glucosa en el hígado, para ello inhibe la fosforilasa hepática, enzima que desdobla el glucógeno en glucosa. A su vez, la insulina aumenta la captación de glucosa de la sangre por las células hepáticas incrementando la actividad de la enzima glucocinasa, que causa la fosforilación de la glucosa tras difundir al interior del hepatocito, impidiendo su salida a través de la membrana (Post y cols, 1961). La insulina también aumenta la actividad de las enzimas que promueven la síntesis del glucógeno, como son la fosfofructocinasa y la glucógeno sintetasa (Figura 3).

Cuando el individuo termina de comer y la glucemia comienza a disminuir, el hígado es capaz de liberar glucosa a la sangre circulante (Kraus-Friedmann, 1984). En primer lugar, la glucemia decreciente hace que el páncreas disminuya su secreción de insulina, así se anulan todos los efectos anteriormente comentados, deteniendo la síntesis de glucógeno en el hígado y la captación de glucosa por las células hepáticas. La ausencia de insulina, con aumento simultáneo del glucagón, activa a la fosforilasa, que favorece el desdoblamiento de glucógeno en fosfato de glucosa, así como a la glucosa fosfatasa, que separa el radical fosfato de la glucosa permitiendo que ésta difunda nuevamente a la sangre.

Cuando la cantidad de glucosa que entra en el hígado es mayor que la que puede ser almacenada como glucógeno, se produce una conversión de todo el exceso de glucosa en ácidos grasos, que serán incorporados como triglicéridos en lipoproteínas de muy baja densidad, que se transportarán y depositarán en los adipocitos (Standaert y cols., 1988).

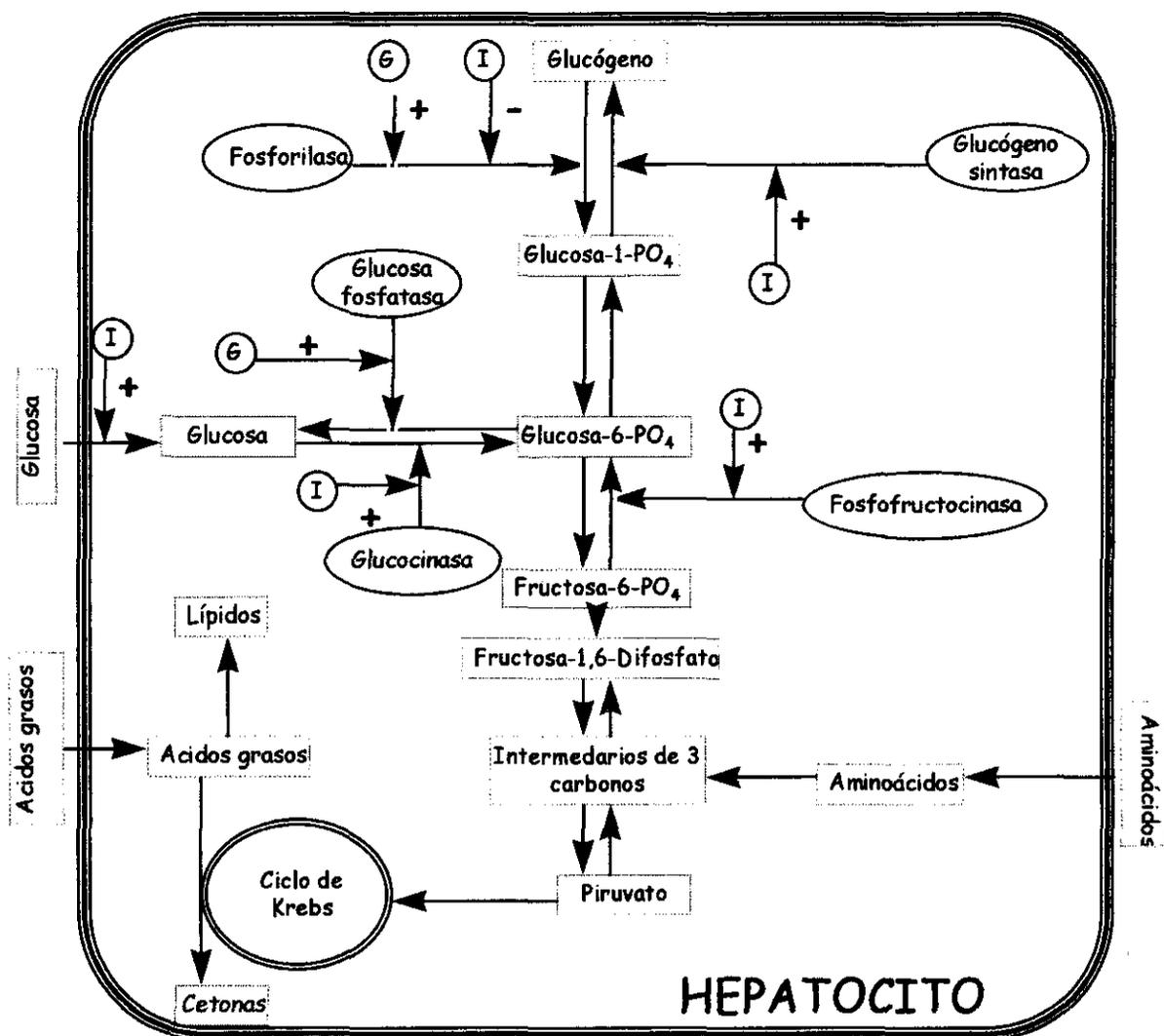


Figura 3.- Esquema general de la regulación hormonal del metabolismo hepático de los hidratos de carbono.

La insulina aumenta el transporte de glucosa al interior de la mayor parte de las otras células del organismo y también su utilización de la misma forma que en las células musculares. Sin embargo, el cerebro es distinto al resto de órganos respecto a la acción de la insulina sobre sus células, ya que éstas son permeables a la glucosa sin necesidad de insulina (Baskin, 1987). La células del cerebro sólo utilizan glucosa como fuente de energía, por tanto es esencial que la glucemia se conserve siempre estable para que dichas células puedan ejercer su función adecuadamente.

1.2.3.2.- Acciones de la insulina sobre el metabolismo lipídico

La insulina tiene varios efectos diferentes que conducen al depósito de grasas en el tejido adiposo. Uno es el simple aumento de la utilización de la glucosa por muchos tejidos del organismo, ahorrando de esta forma la utilización de grasas. Sin embargo, la insulina promueve asimismo la síntesis de ácidos grasos, que en su mayor parte ocurre en las células hepáticas (Standaert y cols., 1984). Cuando la concentración de glucógeno en el hígado aumenta de un 5 a 6% inhibe por sí misma la síntesis de nuevo glucógeno. En ese momento toda la glucosa adicional que penetra en las células hepáticas queda disponible para formar grasa (Hedeskov CJ, 1980; Fain, 1984). La glucosa se desdobla por vía glucolítica en piruvato y a través del ciclo de Krebs se sintetizan los ácidos grasos (Figura 3). Casi todos los ácidos grasos son sintetizados dentro del propio hígado, siendo utilizados para formar triglicéridos que salen de las células hepáticas en lipoproteínas de muy baja densidad. La insulina activa a la lipasa de las lipoproteínas del tejido adiposo, que desdobla de nuevo a los triglicéridos convirtiéndolos en ácidos grasos, fenómeno indispensable para ser absorbidos por las células adiposas, dentro de las cuales se convierten de nuevo en triglicéridos y se almacenan.

La insulina tiene otros dos efectos esenciales para el almacenamiento de grasa en las células adiposas, por un lado inhibe la acción de la lipasa hormonosensible, enzima que causa la hidrólisis de los triglicéridos en los adipocitos, así se inhibe la liberación de ácidos grasos a la sangre circulante. Por otro lado, la insulina promueve el transporte de glucosa al interior de los adipocitos. Parte de la glucosa se utiliza para sintetizar ácidos grasos y otra parte para la formación de otra sustancia esencial para el almacenamiento de grasa: el glicerol, que se une con los ácidos grasos para formar triglicéridos, la forma en que se depositan los lípidos en las células adiposas (Standaert y cols., 1988).

Todos los aspectos del metabolismo lipídico se estimulan mucho cuando no hay insulina, este hecho puede ocurrir entre las comidas, cuando la secreción de insulina es mínima, pero es extremo en la diabetes, en la que casi no se secreta esta hormona (Doniach y cols, 1983). En ausencia de insulina se invierten todos los efectos hormonales que causan el

almacenamiento de grasa. Se activa la lipasa hormonosensible de los adipocitos, produciéndose una hidrólisis de los triglicéridos almacenados y liberándose grandes cantidades de ácidos grasos y glicerol a la sangre circulante. Su alta concentración plasmática hace que sean el principal sustrato de energía empleado por casi todos los tejidos del organismo incluido el cerebro. El exceso de ácidos grasos en el hígado promueve la conversión de algunos de ellos en fosfolípidos y colesterol, que junto con algunos triglicéridos formados en el hígado, pasan después a la sangre en las lipoproteínas, dando lugar a altas concentraciones de lípidos en plasma que favorecen el desarrollo de aterosclerosis (Reaven y cols., 1986).

La falta de insulina origina también la formación de cantidades excesivas de ácido acetoacético en las células hepáticas. Parte de este ácido se convierte en β -hidroxibutírico y acetona. Estas dos sustancias, junto con el ácido acético, se llaman cuerpos cetónicos, su presencia puede producir acidosis grave y coma (Goren, 1988).

1.2.3.3.- Acciones de la insulina sobre el metabolismo de las proteínas

Cuando se dispone de cantidades excesivas de nutrientes en la sangre circulante, unas pocas horas después de las comidas, además de hidratos de carbono y grasas se almacenan proteínas en los tejidos; para que esto ocurra es necesario que haya insulina (Hedekov CJ, 1980; Fain, 1984).

La insulina induce el transporte activo de muchos aminoácidos al interior celular, es decir, comparte con la hormona de crecimiento la capacidad de aumentar la captación de aminoácidos por las células. La insulina tiene, además, efectos directos en los ribosomas, aumentando la traducción del ARN mensajero, formando así nuevas proteínas. Asimismo, la insulina aumenta la transcripción del ADN nuclear, formando así mayores cantidades de ARN y promoviendo la síntesis y activación de enzimas necesarias para el almacenamiento de hidratos de carbono, grasas y proteínas (Meisler y cols., 1989). La insulina, a su vez, inhibe el catabolismo protéico y en el hígado deprime la gluconeogénesis, ya que para la síntesis de

glucosa mediante este proceso son empleados aminoácidos plasmáticos, por tanto su inhibición conserva los aminoácidos en las reservas de proteínas del cuerpo (Kraus-Friedmann, 1984).

En ausencia de insulina todo el almacenamiento proteico se interrumpe aumentando el catabolismo. En consecuencia, aumenta la concentración plasmática de aminoácidos. La destrucción proteica es una de las complicaciones más importantes en la diabetes mellitus (Ward y cols., 1989).

1.2.4.- Regulación de la secreción de insulina

La secreción de insulina se encuentra principalmente regulada por la glucemia, aunque es importante tener en cuenta que la participación de esta hormona en el metabolismo de proteínas y grasas implica a otros factores en el control de su secreción (Howell y cols., 1984).

Con la glucemia normal en ayunas de 80 a 90 mg/dl, la tasa de secreción de insulina es mínima. Si la glucemia se eleva repentinamente a un nivel dos ó tres veces el normal y se mantienen estos niveles elevados, la secreción de insulina aumenta llamativamente en dos fases, como se observa en la figura 4 A.

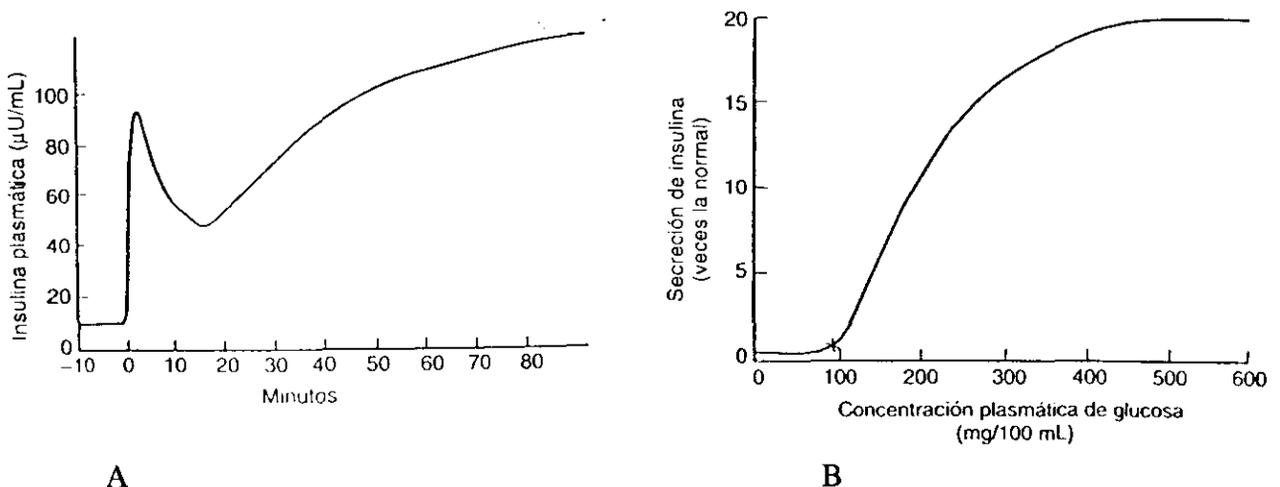


Figura 4.- (A) Aumento de la concentración plasmática de insulina tras un incremento repentino de la glucosa sanguínea. (B) Aumento aproximado de la secreción de insulina con diferentes niveles de glucosa.

En la primera fase, se incrementa casi diez veces en un plazo de tres a cinco minutos tras la elevación aguda de la glucosa sanguínea; este fenómeno es consecuencia del vaciamiento rápido e inmediato de la insulina preformada por las células β de los islotes de Langerhans (Helleström, 1984). Sin embargo, esta secreción inicial no se conserva así; sino que tiende a normalizarse. Después de un intervalo de quince minutos, se incrementa de nuevo la secreción alcanzando niveles incluso superiores a los de la fase de liberación rápida. Esta secreción resulta tanto de la descarga adicional de insulina preformada como de la actividad de algún sistema enzimático que sintetiza y libera nueva insulina desde las células.

Al elevarse la concentración de glucosa por encima de 100 mg/dl, la magnitud de la secreción de insulina se incrementa con rapidez, llegando a un nivel máximo de diez a treinta veces el nivel basal para concentraciones sanguíneas de glucosa que se encuentran entre 400 y 600 mg/dl (Figura 4 B). El incremento en la secreción de insulina es espectacular tanto en su rapidez como en la enorme tasa de secreción que se alcanza. Además, la interrupción de la secreción de insulina es igualmente rápida, produciéndose dentro de los tres a cinco minutos siguientes a la reducción de la glucemia a los niveles de ayuno. Esta respuesta de la secreción de insulina a una glucemia elevada supone un mecanismo de retroalimentación positivo de extrema importancia para la regulación de la glucemia. Es decir, cualquier aumento de la glucosa aumenta la secreción de insulina, y la insulina a su vez aumenta el transporte de glucosa al interior del hígado, el músculo y otras células, reduciendo así la concentración de glucosa sanguínea a valores normales (Kraus-Friedmann, 1984).

Además del efecto estimulante de la glucemia elevada sobre la secreción de insulina, algunos aminoácidos son capaces de estimular la síntesis y liberación de insulina. Sin embargo, este efecto difiere en la estimulación que produce la glucosa, ya que los aminoácidos sólo son capaces de incrementar la secreción de insulina en presencia de niveles elevados de glucemia, potenciando *enérgicamente* el estímulo que ejerce la glucosa sobre la secreción de insulina. La estimulación de la secreción de insulina por los aminoácidos parece tener una finalidad concreta, ya que la insulina estimula a su vez el transporte de aminoácidos hacia el interior

celular y también la síntesis de proteínas, es decir, la insulina tiene importancia para la utilización apropiada del exceso de aminoácidos (Malaisse, 1984).

Un conjunto de hormonas gastrointestinales (gastrina, secretina, colecistocinina y el péptido inhibidor gástrico) causan un aumento moderado de la secreción de insulina (DeGroot, 1989). Estas hormonas se liberan en el aparato gastrointestinal tras la ingesta de alimentos, produciendo un incremento anticipado de la insulina sanguínea, como preparación para la glucosa y los aminoácidos que se van a absorber. Estas hormonas casi duplican la magnitud de la secreción de insulina, a medida que la concentración de glucosa en sangre periférica aumenta. Otras hormonas que pueden aumentar directamente la secreción de insulina o potenciar el estímulo de glucosa de secreción de insulina son el glucagón, la hormona de crecimiento, el cortisol y en menor medida la progesterona y el estrógeno (Lenzen y cols., 1984). La importancia de los efectos estimuladores de estas hormonas es que la secreción prolongada de cualquiera de ellas en grandes cantidades puede determinar, ocasionalmente, el agotamiento de las células β de los islotes de Langerhans y causar así diabetes mellitus. En ciertas condiciones, la estimulación de los nervios simpáticos o parasimpáticos que inervan el páncreas puede aumentar la secreción de insulina. Sin embargo, es dudoso que alguno de estos efectos tenga importancia fisiológica en la regulación de la secreción de insulina (Petersen y cols., 1987).

1.3.- RESISTENCIA A LA INSULINA E HIPERINSULINISMO

1.3.1.- Sensibilidad a la acción de la insulina: conceptos de resistencia a la insulina e hiperinsulinismo

Se ha observado que existe una enorme variabilidad en los niveles de insulina que se alcanzan en respuesta a un estímulo en distintos individuos e incluso en un mismo individuo. Asimismo, la infusión de una determinada dosis de insulina produce efectos muy variados. En resumen, la sensibilidad a la insulina de diferentes sujetos o de un sujeto dado en diferentes

circunstancias, es sumamente variable. Cuando esta sensibilidad se encuentra significativamente disminuida se habla de resistencia insulínica.

Se han descrito deficiencias para cada uno de los eslabones de la cadena de acción insulínica en determinadas condiciones fisiológicas y/o patológicas. Sin embargo, dado el papel que tiene el nivel de glucemia en la regulación de la secreción de la insulina, es lógico pensar que la disminución de la acción hipoglucemiante de la insulina dará lugar a una alteración en el patrón de secreción de insulina. Por tanto, cuando se habla de sensibilidad a insulina, se hace referencia a su efecto hipoglucemiante, es decir, a su efecto estimulador de la captación periférica de la glucosa.

La resistencia a la insulina consiste en una disminución significativa de la captación de glucosa por los tejidos para unas concentraciones dadas de insulina. En presencia de esta situación se produce un aumento de los niveles plasmáticos de insulina, situación que recibe el nombre de hiperinsulinismo, y que tiende a corregir el defecto, ya que al estar disminuida la captación de glucosa por parte de los tejidos, las células β pancreáticas tienden a secretar una mayor cantidad de insulina con objeto de mantener la homeostasis de la glucosa. Por tanto, la presencia de hiperinsulinismo sugiere un estado de resistencia a la insulina.

El hígado y el músculo son los tejidos donde se da, mayoritariamente, la resistencia a la insulina que implica una disminución de la permeabilidad celular a la glucosa. En pacientes con resistencia a la insulina se ha observado una disminución en el flujo sanguíneo al músculo esquelético (Baron y cols., 1993) que conduce a una menor captación de glucosa por parte de éste.

En algunos casos de resistencia a la insulina, llega un momento, en que la hiperinsulinemia compensadora es insuficiente para cubrir las demandas y empieza a presentarse intolerancia a la glucosa. Hay evidencias experimentales que muestran que la hiperglucemia mantenida puede dañar la célula β , precipitando su fracaso secretor (Unger y cols., 1985).

El papel clave que representa la captación de la glucosa estimulada por insulina (CGEI) en la regulación del nivel de secreción de insulina (SI) fue observada por Bergman en 1990, que aplicando la técnica del clamp hiperinsulinémico-normoglucémico a sujetos sanos, concluye que en éstos el producto CGEI x SI permanece constante a pesar de existir grandes variaciones en la CGEI, esto quiere decir que una situación de resistencia insulínica se compensa automáticamente por un aumento de la secreción insulínica. Sin embargo, en las situaciones de intolerancia a los hidratos de carbono y en la diabetes mellitus tipo II, el valor de este producto decrece, es decir, la secreción de insulina no aumenta lo suficiente para compensar el nivel de resistencia observado, ya sea por agotamiento de la célula β o por desensitización al nivel de glucemia. Asimismo, se ha descrito que en poblaciones de riesgo (indios Pima, familiares de diabéticos tipo II, etc.) la disminución del producto CGEI x SI correlaciona bien con el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo II (Bergman, 1990).

Así pues, la aparición de resistencia a la insulina da lugar a la secreción elevada de insulina, es decir, al hiperinsulinismo, siempre que se mantenga la capacidad de secreción y la sensibilidad a la glucosa por parte de la célula β se producirá un incremento compensatorio de la secreción de insulina para suplir la acción deficiente de ésta. Gracias a este incremento, la tolerancia a la glucosa se mantiene normal. Esta interacción dinámica entre la secreción y la sensibilidad a insulina puede explicarse examinando los cambios que se observan en el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina en personas obesas que acaban siendo diabéticas. Cuando una persona de un peso normal consume un exceso de calorías se produce una ganancia de peso. El desarrollo de obesidad se encuentra asociado a la resistencia a la insulina que afecta al músculo y al hígado (DeFronzo, 1988). Sin embargo, la tolerancia a la glucosa permanece normal porque las células β pancreáticas aumentan su secreción de insulina para compensar esa resistencia a la insulina observada. Pero llega un momento en el cual se agota la capacidad de la célula β y desciende la tasa de secreción de la insulina. De esta forma la concentración plasmática de insulina empieza a disminuir progresivamente. Es entonces cuando se produce la intolerancia a los hidratos de carbono y la diabetes mellitus no dependiente de insulina.

Se ha observado que una parte muy importante de las poblaciones con estilo de vida occidental presentan una CGEI disminuida incluyendo sujetos no obesos y con tolerancia normal a hidratos de carbono. Los mecanismos implicados en esta situación distan de estar aclarados, aunque se han descrito diversas alteraciones, como la disminución del número y de la afinidad de los receptores, la disminución de la autofosforilación y de la actividad tirosinquinasa del receptor, la disminución de la translocación de los transportadores de glucosa a la membrana plasmática, la disminución de la actividad de dichos transportadores, la inhibición de la actividad enzimática glucogenosintética, etc. (Olefsky y cols., 1988). La inhibición de la translocación de los transportadores de glucosa podría ser especialmente importante, puesto que se ha observado que resulta limitante para el metabolismo de la glucosa en los tejidos periféricos (Ziel y cols., 1988).

Aunque han sido propuestas múltiples hipótesis, no se conoce con profundidad de qué forma el estilo de vida (dieta, ejercicio) influye sobre estos mecanismos. Por ejemplo, la cantidad y la composición de la grasa de la dieta podría influir en la permeabilidad de la membrana celular al magnesio, de forma que un déficit del magnesio intracelular causaría resistencia insulínica post-receptor (Resnick, 1987).

En cualquier caso la disminución del CGEI condiciona por una parte un riesgo incrementado de intolerancia a los hidratos de carbono y de diabetes mellitus tipo II y por otra parte una elevada prevalencia de hiperinsulinismo, que puede provocar ciertas alteraciones que conducen a la hipertensión.

1.3.2.- Tipos de resistencia a la insulina

Las causas que provocan la resistencia a la insulina pueden dividirse en:

- alteraciones de prerreceptor
- alteraciones del receptor o postreceptor

Las alteraciones de prerreceptor se basan en alteraciones estructurales de la molécula de insulina, a la aparición de anticuerpos o a la existencia de niveles elevados de hormonas contrarreguladoras, GH (hormona de crecimiento), corticoides y catecolaminas principalmente.

Las alteraciones a nivel del receptor o postreceptor podrían ir ligadas a la disminución del número de receptores, a la existencia de anticuerpos contra la subunidad del receptor o a una alteración en la activación de la tirosin-quinasa. Este defecto ha sido demostrado en pacientes obesos y con diabetes mellitus tipo II a nivel del tejido muscular, adiposo y hepático y sería la expresión más clara del tipo de resistencia de postreceptor (Caro y cols., 1989).

1.3.3.- Métodos de determinación de la resistencia a la insulina

1.3.3.1.- Técnica del clamp hiperinsulinémico-normoglucémico

Los primeros autores que utilizaron este método fueron Andres y cols. en 1966. Más tarde, DeFronzo y cols. en 1979 desarrollaron ampliamente el uso de esta técnica con objeto de cuantificar la acción de la insulina *in vivo*. Actualmente, es el método más ampliamente utilizado para determinar el grado de resistencia a la insulina. Consiste en la infusión de una dosis elevada de insulina (1mU/min/Kg) manteniéndose a la vez constante la glucemia mediante una infusión variable de glucosa, en este modelo la cantidad de glucosa necesaria para mantener la euglucemia equivale a la cantidad de glucosa consumida por las células, ya que la secreción endógena de insulina está suprimida por la infusión, es decir, una menor cantidad de glucosa necesaria para mantener la euglucemia implica una menor utilización de la glucosa y por tanto una mayor resistencia a la misma. Actualmente, no hay un nivel de "normalidad" establecido, y como ya se ha mencionado antes, debe tenerse en cuenta que la sensibilidad a la insulina presenta una gran variabilidad individual. La resistencia a la insulina desencadena un aumento de la secreción de esta hormona, dando lugar al hiperinsulinismo. Si la célula β no tiene la capacidad de respuesta suficiente, ya sea por agotamiento o por desensibilización, se producirá un déficit relativo de insulina, es decir hiperglicemia, intolerancia hidrocarbonada o diabetes mellitus tipo II. Aún con secreción de insulina

adecuada, en algunos casos de resistencia a la insulina, se puede producir hiperglucemia, ya que la hiperinsulinemia cursa con un aumento de ácidos grasos libres circulantes que estimulan la producción hepática de glucosa (Reaven, 1988a).

1.3.3.2.- Test de sobrecarga oral de glucosa

Es la forma más sencilla de estudiar la sensibilidad a la insulina. Consiste en determinar las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina en respuesta a una cantidad de glucosa determinada que es administrada de forma oral. Sin embargo, este método plantea el mismo problema que en el método anterior y es que hay que tener en cuenta la variabilidad individual respecto a la sensibilidad a la insulina. Además, las concentraciones de glucosa e insulina se encuentran parcialmente reguladas por la secreción de otras hormonas como son las incretinas y distintos factores gastrointestinales.

Por motivos de facilidad, para determinar el grado de resistencia a la insulina se emplea más frecuentemente el test de sobrecarga oral de glucosa que la técnica del clamp hiperinsulinémico-normoglucémico. La correlación de ambas técnicas es bastante aceptable (Hollenbeck y cols., 1984).

1.3.3.3.- Test de sobrecarga intravenosa de glucosa

Mediante este test es posible estimar la secreción de insulina tras la inyección de glucosa en el sujeto, lo que supone un estímulo máximo en el organismo dada la ruta de administración intravenosa. Este test no es capaz de diferenciar entre la secreción y la acción de la insulina ya que ambas pueden ser el resultado de la disminución de glucosa en plasma (Starke, 1992).

1.4.- FACTORES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La presión arterial necesaria para impulsar la sangre a través del árbol circulatorio la determina el bombeo cardíaco (gasto cardíaco) y el tono arterial (resistencia periférica). En condiciones normales un aumento del gasto cardíaco es compensado por una disminución de las resistencias vasculares y viceversa. Cada uno de estos determinantes primarios de la presión arterial está determinado a su vez por la interacción de una serie de factores más complejos y que aparecen en la figura 5. La hipertensión se atribuye a anomalías de algunos de estos factores (Kaplan, 1991).

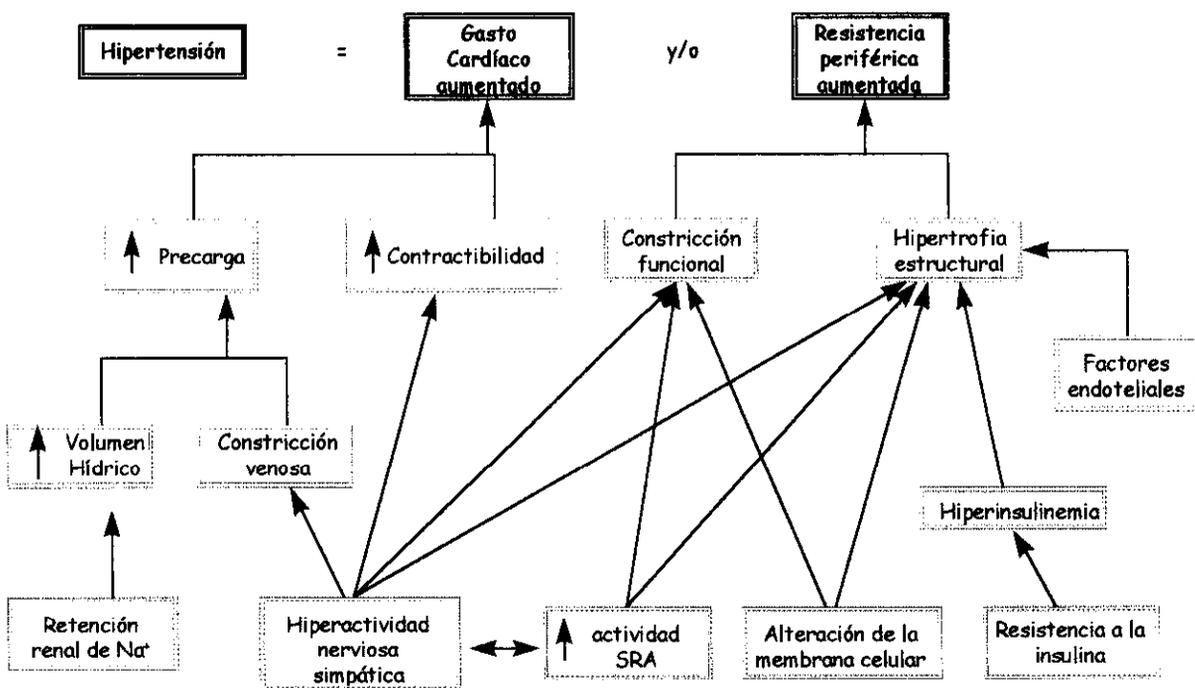


Figura 5.- Algunos de los factores involucrados en el control de la presión arterial que afectan la ecuación básica = gasto cardíaco x resistencia periférica.

Por tanto, los cambios hemodinámicos que determinan un aumento de la presión arterial serán debidos al incremento del gasto cardíaco o a un aumento de la resistencia vascular sistémica. Sin embargo, es importante destacar que aunque el aumento del gasto

cardíaco puede participar en el inicio del desarrollo de la hipertensión, es el aumento de las resistencias vasculares lo que determina el mantenimiento de esta.

El gasto cardíaco se define como la cantidad de sangre bombeada por cada ventrículo en la unidad de tiempo. Este valor depende, a su vez, de la cantidad de sangre bombeada en cada *sístole* (volumen sistólico) y del número de *sístoles por minuto* (frecuencia cardíaca). Algunos pacientes con hipertensión límite en estadios tempranos tienen aumento del gasto cardíaco, pudiendo obedecer a dos mecanismos, ya sea el aumento del volumen sistólico (precarga) o al aumento de la estimulación nerviosa del corazón que afectaría a la frecuencia cardíaca.

La resistencia que oponen a la circulación los vasos sanguíneos es un factor fundamental para determinar los valores de la presión. La contracción de la musculatura lisa arteriolar determina un incremento de la resistencia, con el consiguiente aumento de la presión arterial.

1.4.1.- Aumento de la reabsorción tubular de sodio

El riñón, a través de la regulación del líquido extracelular, ejerce un efectivo control sobre la presión arterial. La alteración de la función excretora renal produce, en un plazo más o menos largo, un gradual aumento de la presión arterial (Guyton y cols., 1972). Cuando la presión arterial se eleva por encima de los niveles normales, afecta a los riñones causando un aumento del volumen urinario y de la excreción urinaria de sodio; este fenómeno se conoce como mecanismo de diuresis o natriuresis de presión. (Roman, 1986). Esta pérdida de agua determina una disminución del volumen del líquido extracelular y por tanto del volumen sanguíneo. Todo lo anterior condiciona al disminuir el retorno venoso, un descenso del gasto cardíaco, que se asocia a un descenso de presión arterial. Los aumentos de la excreción urinaria de sodio y volumen como consecuencia de una elevación de la presión arterial y por lo tanto de la presión de perfusión renal, aparentemente son debidos a un descenso de la reabsorción tubular de sodio. Se ha propuesto que los cambios estructurales que afectan al

riñón pueden producir retención de sodio y así hipertensión (Sealey y cols., 1988). Dado que la regulación renal del volumen hídrico corporal es considerado el mecanismo dominante del control de la presión arterial a largo plazo, si aparece hipertensión, puede ser debido a algún fallo en el mecanismo de natriuresis de presión (Guyton, 1980). En pacientes con hipertensión primaria, la alteración de este mecanismo impide el retorno de la presión a sus valores normales. El proceso comienza con un aumento de la resistencia vascular renal, que refleja una contracción preferencial de las arteriolas eferentes, quizá por un estímulo humoral, y el SRA es un candidato obvio. La disminución del flujo sanguíneo renal aumenta la fracción de filtración. La sangre capilar peritubular, con menos sodio y agua, tendrá una presión oncótica más alta, lo que favorece la reabsorción de sodio. El sodio y el agua retenidos expanden el árbol vascular, aumentando más la presión arterial (Roman y Cowley, 1985).

1.4.2.- Hiperactividad nerviosa simpática

El aumento del gasto cardíaco es atribuible a la hipercontractilidad cardíaca que a su vez es atribuible a un tono adrenérgico más alto. La actividad simpática en el corazón ocurre tras una estimulación directa a través de la liberación de noradrenalina en el miocardio y una indirecta por la acción de otras fibras simpáticas que liberan adrenalina en la circulación. Estas catecolaminas estimulan el corazón activando los receptores adrenérgicos cardíacos β_1 . La activación de estos receptores incrementa la frecuencia y la contractilidad cardíacas (acción cronotrópica e inotrópica positiva). La estimulación del sistema nervioso simpático (SNS) también produce contracción en otros vasos de mayor calibre, en particular en las venas. Esto produce un desplazamiento de la sangre hacia el corazón, aumentando el volumen de llenado. Aumenta, secundariamente, la fuerza de contracción del miocardio, que bombea mayores cantidades de sangre. Tanto el aumento de volumen sanguíneo como el aumento de contractilidad conllevan al incremento del gasto cardíaco. El mecanismo de natriuresis de presión, anteriormente expuesto, puede verse también alterado por la vasoconstricción inducida por el SNS activado sobre las arteriolas renales eferentes (Colombo y cols., 1995).

La acción de las vías simpáticas en los vasos se debe a la noradrenalina liberada en la pared vascular o bien a la adrenalina liberada en la circulación por las glándulas suprarrenales. La respuesta a la estimulación simpática en términos de vasoconstricción o vasodilatación depende del tipo de receptor predominante en una determinada zona. Así, el predominio de los receptores α -adrenérgicos en los vasos sanguíneos produce una vasoconstricción, mientras que el predominio de los β_2 -adrenérgicos de los vasos musculares y coronarios determina una vasodilatación (Abboud, 1982; Braunwald, 1974). La activación de los receptores α -adrenérgicos implica la movilización del calcio de los depósitos intracelulares, así como su entrada desde el espacio extracelular produciéndose un aumento de la concentración citosólica de calcio, que da lugar a la contracción del músculo liso vascular, aumentando, por consiguiente, la resistencia periférica total.

1.4.3.- Aumento de la actividad del sistema renina-angiotensina (SRA)

La renina desempeña un papel esencial en la patogenia en la mayor parte de los casos de hipertensión. La figura 6 muestra, esquemáticamente, el SRA con sus principales componentes. La renina actuando sobre su sustrato, el angiotensinógeno, determina la formación de un decapeptido, la angiotensina I. A partir de esta y por la acción del enzima de conversión de angiotensina (ECA), se forma la AII, que es el principal componente activo del sistema renina-angiotensina (Kaplan, 1991).

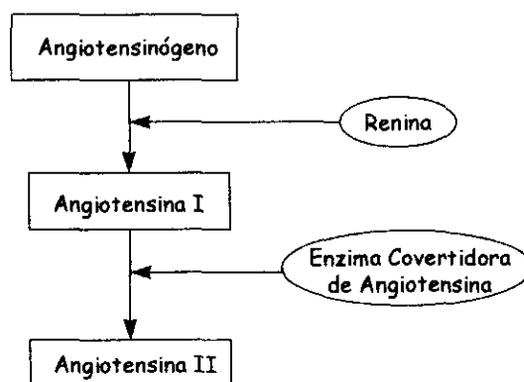


Figura 6.- Esquema del SRA que muestra la cascada bioquímica que conduce a la AII.

La A II ejerce sus acciones a través de su unión a receptores específicos. Se han descrito varios tipos de receptores para la A II (AT₁, AT₂, AT₃, AT₄) pero los más conocidos en la actualidad son los AT₁ y los AT₂. Los receptores AT₁ se localizan principalmente en los vasos, el riñón, el corazón, el cerebro, el útero, los adipocitos, el ovario, el bazo y el pulmón (Kakar y cols., 1992). Los receptores AT₂, se han detectado fundamentalmente en tejidos embrionarios o en crecimiento, y en individuos adultos se han encontrado en la pared vascular, las glándulas adrenales, el sistema nervioso central, el miometrio y en los folículos ováricos atresicos. La mayoría de las acciones conocidas de la AII tienen lugar mediante la interacción con los receptores AT₁. Dichas acciones, de una manera directa o indirecta, afectan a la homeostasis cardiovascular y renal y como consecuencia participan en el desarrollo y mantenimiento de patologías como la hipertensión arterial (Figura 7), la aterosclerosis, la insuficiencia cardiaca, el infarto de miocardio, la hemorragia cerebral, la insuficiencia renal, la nefropatía diabética, etc.

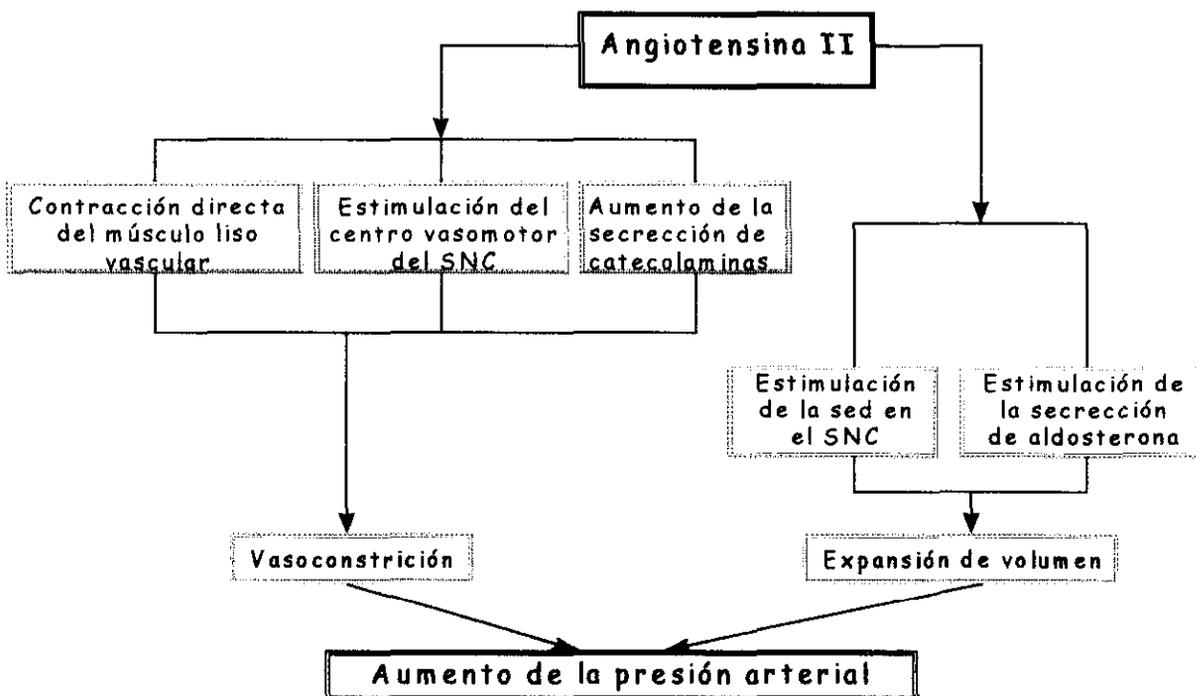


Figura 7.- Representación de la mayoría de las acciones de la AII dirigidas hacia el aumento de la presión arterial (Kaplan, 1991).

Entre las acciones inducidas por la AII que contribuyen a aumentar el gasto cardíaco podemos mencionar:

El aumento de la fuerza de contracción cardíaca, que mantiene el gasto cardíaco; a su vez, la AII potencia el SNS que amplifica los efectos directos vasoconstrictores ionotrópicos y cronotrópicos positivos de la AII.

A nivel renal, la AII produce vasoconstricción en las arteriolas aferentes y eferentes, siendo mayor la constricción producida en la arteriola eferente, reduciendo así el flujo sanguíneo renal y aumentando la filtración glomerular, que junto al efecto directo que ejerce la AII sobre el túbulo produce un aumento de la reabsorción de sodio y agua en el túbulo proximal.

La estimulación de la sensación de sed en el SNC y la liberación de la hormona antidiurética, contribuyendo al aumento del volumen hídrico.

La AII también es un importante estímulo de la secreción de aldosterona. La aldosterona participa en la regulación del sodio y del balance hídrico, así como en la regulación del tono periférico arteriolar (Goodfriend, 1986). Sin embargo, se ha demostrado que pequeños aumentos de AII intrarrenal a dosis no presoras, producen cambios considerables de la natriuresis que no se acompañan de modificaciones de la concentración plasmática de aldosterona (Kanagy y cols., 1990). Por tanto, la participación de la aldosterona en la acción antinatriurética de la AII en condiciones normales parece ser secundaria, aunque hay que destacar que la aldosterona contribuye a evitar una pérdida excesiva de sodio en situaciones de una ingesta baja de sal.

Entre las acciones inducidas por la AII que contribuyen a aumentar la resistencia periférica podemos mencionar:

La capacidad de la AII para producir vasoconstricción generalizada, actuando directamente sobre el músculo liso vascular produciendo su constricción. La AII a través de los receptores AT₁ aumenta el calcio libre citosólico, estimulando su entrada desde el espacio extracelular a través de canales tipo L o T, o su salida de los depósitos intracelulares. El calcio se une a la calmodulina y activa la cinasa de la cadena ligera de la miosina que es dependiente de calcio-calmodulina. Esta cinasa fosforila la cadena ligera de la miosina produciéndose de esta forma la contracción del músculo liso vascular (Dzau, 1986).

Por otro lado, la AII ejerce acciones sobre el crecimiento vascular, afectando a células tan diversas como las células musculares lisas, las células endoteliales o los fibroblastos. Ello posibilita la formación de nuevos capilares o angiogénesis, pero también el engrosamiento patológico de la pared vascular. Dicho engrosamiento se produce en el espacio subintimal y en la capa media, y se asocia a una acumulación anómala de colágeno en la adventicia (Heagerty, 1991).

1.4.4.- Disfunción endotelial

Las alteraciones estructurales y/o funcionales del endotelio vascular están presentes en numerosas situaciones patológicas, incluyendo la arterioesclerosis, la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia y la diabetes (Lüscher y cols, 1992). La disfunción endotelial puede definirse como una serie de alteraciones que afectan la síntesis, la liberación, la difusión o la degradación de los diversos factores derivados del endotelio. El principal mecanismo inductor y mediador de la disfunción endotelial hipertensiva es la presión arterial elevada, responsable de un incremento de las fuerzas de cizallamiento sobre las células endoteliales vasculares que implica modificaciones estructurales y/o funcionales que afectan a la producción o a la liberación de los distintos agentes vasoactivos vasodilatadores como las prostaglandinas, el óxido nítrico (NO) o el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (FHDE) o

vasoconstrictores como el tromboxano A_2 (TXA_2), la endotelina (ET) o los radicales libres de oxígeno. La disfunción endotelial se manifiesta como una reducida respuesta vasodilatadora dependiente de endotelio o una mayor respuesta constrictora dependiente o independiente de endotelio como consecuencia de una alteración en la que el equilibrio entre factores vasodilatadores y vasoconstrictores se ha descompensado (Figura 8) (Lahera y cols, 1997). Esto conlleva a una elevación de las resistencias periféricas totales y al mantenimiento o agravamiento de la hipertensión arterial.

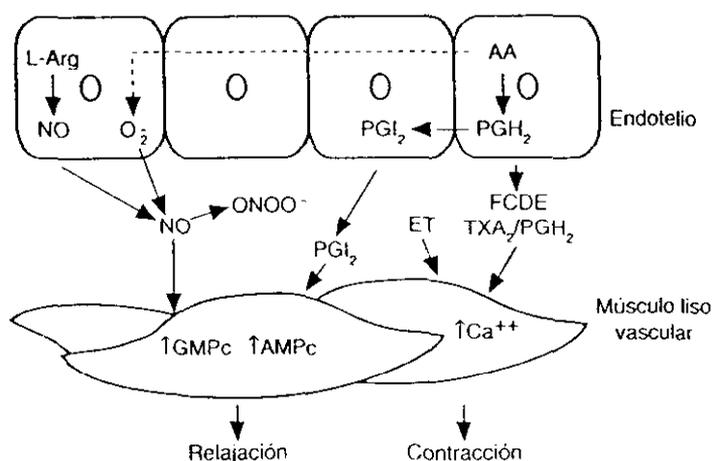


Figura 8.- Disfunción endotelial en la hipertensión esencial: posibles factores implicados.

Dentro de las prostaglandinas, la prostaciclina (PGI_2) contribuye al mantenimiento del flujo sanguíneo, gracias a sus acciones vasodilatadoras y de antiagregación plaquetaria, además ejerce un efecto cronotrópico positivo sobre el corazón. La principal acción de la prostaglandina E_2 (PGE_2) es la de reducir la reabsorción de sodio, produciendo por ello natriuresis. La PGE_2 inhibe también la acción de la hormona antidiurética sobre los túbulos colectores impidiendo la reabsorción de agua e incrementando la diuresis. Por tanto, la deficiencia de prostaglandinas vasodilatadoras podría inducir al desarrollo de hipertensión, alterando la función renal y permitiendo la retención de líquido, así como acentuando los efectos vasoconstrictores de la AII lo que conllevaría al incremento de la resistencia vascular.

La vasoconstricción producida por el aumento de la presión transmural se bloquea con los inhibidores de la cicloxigenasa, lo que indica que un metabolito del ácido araquidónico

mediaría dicho efecto (Lüscher y cols., 1990a). En concreto, dicho factor podría ser el TXA₂ o un endoperóxido cíclico como la prostaglandina H₂ (PGH₂). Por último, la síntesis y liberación de TXA₂ en el endotelio se incrementa por la acción de la noradrenalina, la AII, la nicotina, el ionóforo de calcio A23187, lo que indica que parte de las acciones de estos factores constrictores podrían ser dependientes de la liberación de TXA₂.

En muchos pacientes hipertensos se encuentran anomalías de los vasodilatadores endógenos, como el NO, así como niveles plasmáticos anormales del vasoconstrictor ET (Kohno y cols, 1993). Se ha postulado como origen renal de la hipertensión esencial una menor acción o producción de NO y/o mayor acción y producción de un factor constrictor derivado del endotelio (FCDE) o de la endotelina-1 (ET-1). La ET-1, considerada como el péptido vasoconstrictor más potente conocido, podría estar implicada en la fisiopatología de la hipertensión, ya que en muchos casos se han encontrado niveles plasmáticos de ET-1 aumentados. Sin embargo, dado que la ET-1 es liberada localmente hacia la zona abluminal de la pared vascular, y no es considerada como una hormona circulante, la medida de las concentraciones plasmáticas de ET-1 ha sido criticada como un índice poco preciso de la producción de este factor. La ET a través de receptores específicos que se encuentran en las células del músculo liso produce contracción y proliferación celular.

1.4.5.- Otras hormonas implicadas en la hipertensión

La disminución de la actividad de las cininas puede estar implicada en el desarrollo y en el mantenimiento de la presión arterial elevada. Las cininas son sustancias vasodilatadoras implicadas en la regulación del flujo sanguíneo modulando la respuesta a vasoconstrictores como la AII, a su vez, las cininas estimulan la síntesis de prostaglandinas en las células vasculares y renales. El efecto vasodilatador de las cininas parece independiente de las prostaglandinas, mientras que su efecto natriurético parece depender en parte de la síntesis de prostaglandinas en la médula renal. El sistema calicreína-cinina renal estimula el SRA. Por otro lado, la AII, la aldosterona y las prostaglandinas pueden estimular la liberación de calicreína. La enzima de conversión de angiotensina (ECA), similar a la cininasa II, interrelaciona los

sistemas calicreína-cinina y SRA, ya que por un lado cataliza el paso de AI a AII y por el otro inactiva las cininas (Kaplan, 1991).

La hormona antidiurética (ADH) o vasopresina, segregada por la neurohipófisis, tiene como principal función la reabsorción renal de agua a nivel del túbulo colector. Participa, a través de sus acciones renales, en la homeostasis del volumen de líquido extracelular. A nivel vascular, incluso a dosis muy bajas ejerce un efecto vasoconstrictor. Esta hormona podría estar involucrada en la hipertensión primaria. Diversos modelos animales de hipertensión presentan niveles altos de vasopresina (Möhring y cols., 1979; Crofton y cols., 1979). Asimismo, en pacientes con hipertensión primaria hiporreninémica se observan concentraciones plasmáticas elevadas de vasopresina (Os y cols., 1986).

Existen otras hormonas como los péptidos opioides, la neurotensina, el péptido intestinal vasoactivo, el péptido natriurético atrial que también ejercen un papel en el control de la presión arterial.

1.4.6.- Alteraciones estructurales de la pared vascular

El aumento de las resistencias vasculares periféricas parece ser consecuencia del tono vascular y/o de los cambios estructurales caracterizados por un aumento del grosor de la capa media vascular. Las modificaciones estructurales de la pared arterial pueden ser debidas a tres procesos distintos: La hipertrofia, la hiperplasia y el remodelado de los componentes de la pared vascular (Mulvany y Aalkjaer, 1980; Heagerty, 1991). El engrosamiento de la pared arterial se debe a un incremento de la masa del músculo liso vascular y del tejido conectivo de la capa media, aunque también desempeñan un papel importante los procesos de remodelado de los componentes de la pared vascular. Estas alteraciones de la estructura de los vasos arteriales tienen importantes repercusiones no sólo morfológicas, sino también funcionales para diversos órganos como el corazón, el sistema nervioso central y el riñón.

La hiperactividad nerviosa simpática es considerada como un factor inductor de la hipertrofia vascular. Tanto la noradrenalina como los agonistas adrenérgicos estimulan el crecimiento de las células del músculo liso arterial *in vivo* e *in vitro* (Blaes y Bloissel, 1983; Bell y Madri, 1989; Cavallero y cols, 1973). Además, las catecolaminas endógenas también parecen estar implicadas en la regulación de los procesos de crecimiento de la pared vascular, ya que la denervación simpática o la simpatectomía química inhiben la proliferación de las células musculares lisas (Bevan, 1975; Fronck y cols, 1978; Lee y cols, 1987).

La AII, junto con el estrés hemodinámico que tiene lugar la hipertensión arterial, es uno de los principales factores causantes de las alteraciones morfológicas de la pared vascular (Heagerty, 1991). Las acciones de la AII sobre el crecimiento de la pared vascular dependen de la activación de los receptores AT₁ en las células musculares lisas, a corto plazo median la vasoconstricción, pero a largo plazo modifican la expresión génica promoviendo la síntesis de ADN y de proteínas. La A II también es capaz de estimular la producción y la acción de factores mitogénicos como el factor de crecimiento de fibroblastos (bFGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento tumoral (TGf α) o el factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (VEGF) que estimulan la proliferación de las células musculares lisas y la síntesis de proteínas. La A II, a través de la estimulación de los receptores AT₁, parece jugar un importante papel en la formación, migración y proliferación subendotelial de las células musculares lisas de la media que forman la neointima en respuesta al daño vascular producido por la angioplastia. Recientemente se ha demostrado que el PDGF parece jugar un importante papel en este proceso, ya que es parcialmente responsable del crecimiento inducido por la A II, asimismo estimula la expresión de receptores AT₁ en las células de la neointima, lo cual realimenta positivamente este proceso.

La ET estimula el crecimiento y la proliferación de una gran variedad de tipos celulares, incluyendo las células del músculo liso vascular y las células endoteliales. Además, otros factores de crecimiento como el PDGF o el bFGF potencian la actividad mitogénica de la ET.

Asimismo, ésta podría estimular la proliferación del músculo liso indirectamente facilitando la producción local de la AII

1.5.- INTERRELACIONES ENTRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y LA HIPERTENSIÓN

Tanto la resistencia a la insulina como la hiperinsulinemia son patologías que en muchos casos se presentan en pacientes con hipertensión esencial (Reaven y cols., 1987, Defronzo y cols., 1991). Esta hipótesis se ha basado en que algunos grupos de pacientes con hipertensión presentan hiperinsulinemia (Lucas y cols., 1985, Ferrannini y cols., 1987) y ésta parece estar asociada a la resistencia a la insulina. A su vez, estas alteraciones en el metabolismo de la glucosa están relacionadas con el desarrollo de aterosclerosis. Por tanto, se ha sugerido que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia juegan un importante papel en el desarrollo de la hipertensión, la dislipidemia y la aterosclerosis (Reaven, 1991a).

En la actualidad, es un hecho conocido que la resistencia a la insulina y la hipertensión arterial se encuentran a menudo asociadas. En humanos esta asociación se da, al menos, en un 60% de la población occidental (Black, 1990). Se han propuesto múltiples mecanismos que conducen a la hipertensión partiendo de la resistencia a la insulina (Ferrannini y col. 1987, Gans y col. 1991). Sin embargo, la relación patogénica entre estas dos enfermedades tan frecuentes continúa siendo un enigma, por ello se sigue debatiendo si la asociación entre hipertensión e insulinoresistencia, es o no causal. Existen trabajos que así lo apoyan y otros que lo debaten.

Una explicación alternativa para el vínculo de unión entre hipertensión y resistencia a la insulina es el desarrollo de hiperinsulinemia. La respuesta a la resistencia a la insulina por parte de las células β , como se ha explicado anteriormente, es aumentar su secreción de insulina y ésta, actuando directamente sobre los vasos de resistencia arteriales, de lugar a un incremento de la presión arterial.

La explicación sobre la asociación entre la hipertensión arterial y la resistencia a la insulina, dio lugar a la búsqueda de un modelo experimental que presentara dichas alteraciones. La resistencia a la insulina aparece en distintos modelos de hipertensión experimental. El desarrollo de resistencia a la insulina e hipertensión puede conseguirse experimentalmente en roedores mediante la administración de dietas ricas en sacarosa o fructosa (Zavaroni y cols., 1980). Estos modelos experimentales han aportado mucha información sobre los mecanismos bioquímicos responsables del empeoramiento de la disminución de la sensibilidad a la insulina (Tobey y cols., 1982). En el modelo experimental de la rata alimentada con fructosa se desarrolla un incremento de la presión arterial que no es determinado genéticamente, sino que es inducido mediante la dieta (Hwang y cols., 1987). La fructosa es el hidrato de carbono escogido por la mayoría de los autores para desarrollar el modelo experimental de ratas con hipertensión asociada a resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. Froesch en 1972 demostró en experimentos *in vivo* que la mayoría de la fructosa administrada era rápidamente convertida en glucosa. Además demostró que en animales diabéticos, la fructosa era aún más rápidamente convertida en glucosa y que más de un 20% de esta fructosa se eliminaba en forma de glucosa en la orina.

Hall en 1966 fue uno de los primeros investigadores que observó que el incremento de la ingesta de hidratos de carbono eleva los niveles de presión arterial en animales de experimentación. Más tarde, Young y cols. en 1977 así como Fournier y cols en 1986 observaron que la alimentación con sacarosa acentuaba la elevación de la presión arterial en ratas Wistar-Kyoto (WKY) y en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Además del incremento de presión arterial, las dietas ricas en hidratos de carbono producen resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia.

1.5.1.- Mecanismos por los que el hiperinsulinismo puede causar hipertensión

Los nexos de unión entre resistencia a la insulina e hipertensión se basan en los efectos adversos de la resistencia a la insulina:

1.5.1.1.- Alteraciones de la membrana del músculo liso vascular

La hipertensión en individuos diabéticos puede en muchos casos ser causa de un incremento de la resistencia vascular periférica que da lugar a la aparición de respuestas aumentadas a agonistas contráctiles en el músculo liso vascular (Weidman y cols., 1985). Además, se producen alteraciones en el transporte catiónico en las células de la musculatura lisa vascular que pueden llevar a un incremento en las resistencias vasculares a través del aumento de la concentración citoplasmática de calcio en las células de la musculatura lisa vascular, dicho aumento está implicado en la contractibilidad de las células del músculo liso (Levy y cols., 1989). El calcio intracelular es fundamental en la contracción cardíaca y de la musculatura lisa vascular (Ringer, 1983, Kuriyama y cols., 1982), jugando un papel importante en la frecuencia cardíaca y en la resistencia vascular. Por esta razón muchos investigadores han centrado su atención en las acciones del calcio sobre la hipertensión. Existe una correlación entre los niveles de presión arterial y las concentraciones libres de calcio intracelulares en plaquetas de pacientes hipertensos (Erne y cols., 1984). Por otro lado se da una correlación inversa entre los niveles de presión arterial y la concentración de magnesio de células sanguíneas en hipertensos (Resnick y cols., 1984). Estos estudios sugieren que una alteración en el metabolismo iónico intracelular puede representar la unión entre la presión arterial y las alteraciones del metabolismo de hidratos de carbono (Resnick, 1991).

La insulina parece jugar un importante papel en la regulación de dos importantes bombas de la membrana celular, la bomba de Ca^{2+} -ATPasa y la bomba de Na^{+} - K^{+} -ATPasa (Figura 9). La resistencia a la insulina podría dar lugar a una disminución de la actividad de ambas bombas, lo que implica un incremento en la concentración citoplasmática de calcio en las células de la musculatura lisa vascular capaz de incrementar las resistencias vasculares periféricas.

Otra bomba de la membrana celular que se encuentra afectada por la insulina es el intercambiador Na^{+} - H^{+} (Pontrememali y cols., 1991). Este intercambiador está involucrado en el intercambio de iones de Na^{+} externos por iones de H^{+} intracelulares y está presente en todas

las membranas celulares. Dentro de sus múltiples funciones se encuentran la regulación del pH intracelular, el ingreso intracelular de sodio y la transferencia de solutos a través de las células epiteliales (Seifter y Aronson, 1986). Además, un incremento de la actividad del intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ puede dar lugar a una acumulación de sodio capaz de incrementar la concentración citoplasmática de calcio en la hipertensión esencial (Aviv y cols., 1988). Dicho incremento está implicado en la hipertensión vascular asociada con la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia (Weidman y cols., 1985). El intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ es muy abundante en el ribete en cepillo de las células tubulares renales y su activación introduce en éstas sodio procedente del túbulo a la vez que extrae de ellas protones hacia el túbulo. Curiosamente el intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ es el único marcador genético conocido que se ha asociado con el desarrollo de la hipertensión esencial (Canessa y cols., 1980). La retención de sodio inducida por insulina no se mantiene a largo plazo debido a la estimulación de diversos mecanismos contrarreguladores. La insulina “per se” no es un inhibidor de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPasa}$, pero se ha observado que en situaciones de hiperinsulinismo como la hipertensión arterial esencial y la diabetes mellitus puede existir un incremento de la hormona natriurética, presumiblemente desencadenado por la retención hidrosalina secundaria a la acción insulínica, resultando en una inhibición de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPasa}$, lo que puede contribuir a aumentar el exceso de sodio.

Existen otros factores como el factor natriurético atrial, que pueden producir natriuresis compensadora sin causar incremento del sodio o el calcio intracelular ni hipertensión; aunque hoy día no se conocen bien cuáles son los condicionantes para la activación de uno u otro de estos mecanismos.

En la situación de aumento de insulina, se ha observado inhibición de la $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPasa}$, favoreciendo la acumulación de calcio y el déficit de magnesio intracelular. La hiperactividad noradrenérgica favorece la entrada de calcio a la célula a través de los canales de calcio operados por receptor, sensibles a la estimulación alfa-adrenérgica. Estos mecanismos pueden incrementar más aún el exceso de calcio intracelular, y por tanto la hiperreactividad vascular.

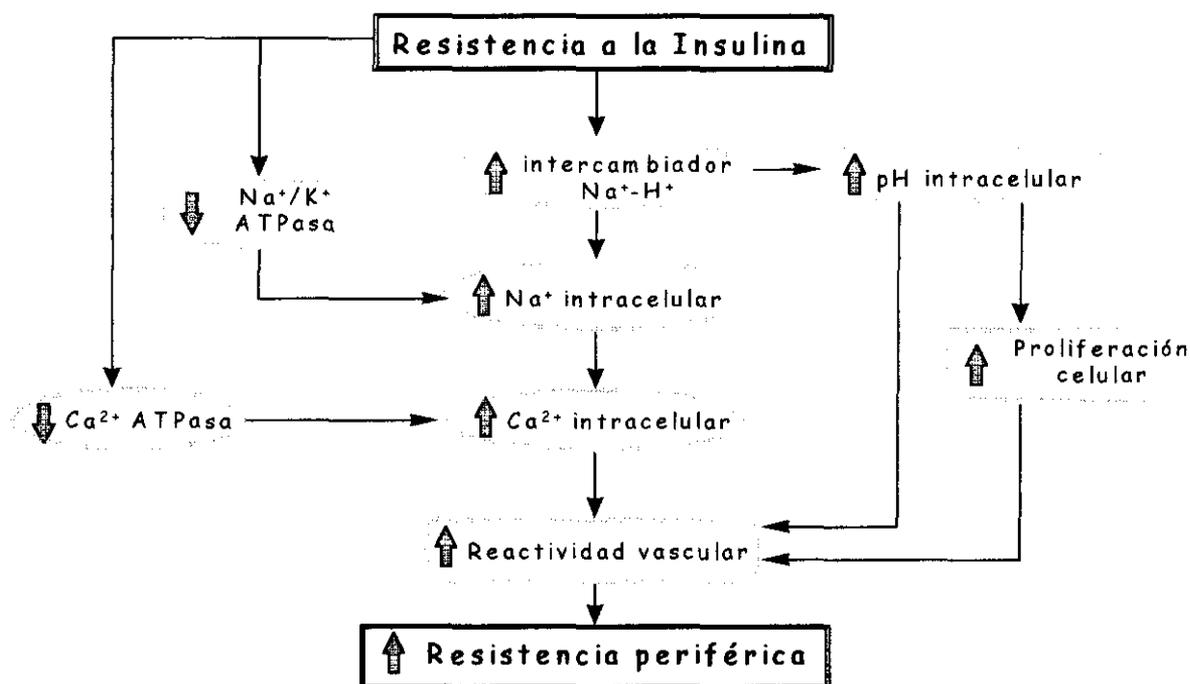


Figura 9.- Interacción de la resistencia a la insulina y la membrana plasmática.

1.5.1.2.- Efecto estimulador del sistema nervioso simpático

En modelos experimentales y en humanos, se ha observado una activación del SNS tras la inyección de insulina. Por otra parte, se ha descrito que la situación de ayuno prolongado suprime la actividad del SNS en animales (Young 1977) y en el hombre (Young y cols 1984). Por otro lado la realimentación da lugar a una estimulación del SNS. Liang y cols. en 1982 demostraron que durante la aplicación del "clamp" de insulina normoglucémico en perros se incrementaban los niveles de noradrenalina plasmática. En el hombre, mediante la técnica del "clamp" normoglucémico se ha demostrado de forma concluyente que la inyección de dosis progresivas de insulina condiciona un incremento dosis-dependiente de noradrenalina circulante, con incremento de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial (Rowe y cols., 1981). Estos datos han sido confirmados mediante registros con microelectrodos intraneurales en fascículos nerviosos de los vasos de resistencia del músculo esquelético, que han permitido demostrar el incremento de impulsos simpáticos vasoconstrictores durante estudios con

“clamp” normoglucémico hiperinsulinémico (Berne y cols., 1989). Aunque, también existen resultados contradictorios respecto a este punto como los que encontraron Airaksinen y cols. en 1985, estos autores observaron que la infusión intravenosa de insulina en humanos no producía ninguna modificación.

En situaciones de hiperinsulinemia se produce una estimulación simpática mantenida, que a su vez aumenta la resistencia a la insulina, creándose un círculo vicioso. Una ingesta de hidratos de carbono elevada produce un incremento en la concentración de insulina plasmática, que da lugar a un aumento de noradrenalina en una gran variedad de tejidos como son el músculo, el hígado y los adipocitos (Fournier, 1986). Por el contrario, una reducción de hidratos carbono en la dieta disminuye la secreción de noradrenalina. Cuando la secreción de insulina es inhibida con somatostatina se bloquea la estimulación sobre el SNS producida por la elevada ingesta de hidratos de carbono (Reaven, 1989 b). Estos resultados sugieren que la insulina media los cambios inducidos por la dieta sobre la actividad del SNS.

Es conocido el hecho de que la adrenalina es un potente antagonista de insulina (Dietbert y cols., 1980), siendo capaz de inhibir la captación de glucosa mediada por insulina por parte del músculo esquelético además de bloquear la acción inhibitoria de la glucosa sobre la producción de glucosa hepática. Este efecto podría dar lugar a la aparición de resistencia a la insulina y más tarde a hiperinsulinismo.

Como ya hemos explicado en la presente introducción, el incremento en la actividad del SNS es capaz de elevar la presión arterial a través de múltiples mecanismos: aumento de la frecuencia cardíaca, incremento del volumen sanguíneo cardio-pulmonar, vasoconstricción de los vasos de resistencia arteriales y retención renal de sodio. El mecanismo por el cual la insulina estimula el sistema nervioso simpático no está totalmente aclarado. Es posible que ocurra a través de una acción central en áreas sensibles a la insulina en el hipotálamo, ya que en el núcleo ventromedial del hipotálamo existen ciertas neuronas sensibles a la glucemia e insulinemia que modulan la actividad simpática de los centros troncoencefálicos. Existen datos que demuestran que tanto la inyección hipotalámica de glucosa como de insulina producían hiperactividad simpática periférica, motivo por el que se postuló la ubicación del sistema

efector a nivel hipotalámico. La demostración de esta suposición se obtuvo con los experimentos de destrucción selectiva de un grupo de células hipotalámicas con Aurothioglucosa, lo cual condicionaba en animales de experimentación un bloqueo de la actividad simpática por el ayuno (Young y cols., 1980).

1.5.1.3.- Efecto del sistema renina-angiotensina

Hallab y cols. en 1992 observaron que la insulina ejercía efectos sistémicos incrementando los niveles plasmáticos de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), de esta forma aumentaba la secreción de aldosterona (Rocchini y cols., 1990) y la producción de AII, que como ya hemos hablado anteriormente, tiene efectos presores sobre la musculatura lisa vascular. Asimismo, Lind y cols. en 1992 observaron en pacientes hipertensos con sensibilidad a la insulina disminuida, una elevada actividad de renina plasmática. El estudio de Rao en 1994 demostró que la infusión de AII a una dosis que producía un incremento de la presión arterial inducía, a su vez, un estado de resistencia a la insulina ya que la vasoconstricción producida por la AII reducía la captación de glucosa.

Se ha demostrado que los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina así como los antagonistas de los receptores AT_1 de AII mejoran la sensibilidad a la insulina en pacientes hipertensos y en ratas alimentadas con fructosa (Ferranini y cols., 1987, Pollare y cols., 1989, Iyer y cols., 1996) Esto sugiere la participación de la AII en los mecanismos de insulinoresistencia asociados con la hipertensión.

Otro posible mecanismo que explique la relación entre el SRA y la sensibilidad a la insulina podría ser una anormalidad en la homeostasis del magnesio. El magnesio ejerce un papel regulador en la contracción del músculo liso vascular así como en procesos relacionados con el metabolismo de la glucosa como es la glicolisis, por esta razón es importante destacar que Resnick y cols. en 1983 observaron una concentración sérica de magnesio disminuida en pacientes hipertensos con alta actividad de renina plasmática.

1.5.1.4.- Efectos sobre la pared vascular

La insulina es capaz de estimular directamente la proliferación del músculo liso vascular. A diferencia del resto de las células del organismo las cuales endocitan y degradan los complejos insulina-receptor, se ha observado que la célula del endotelio vascular es capaz de entregar la insulina intacta a la pared vascular tras endocitosis desde el torrente circulatorio.

La insulina puede contribuir al desarrollo de hipertensión, actuando directa o indirectamente a través de la estimulación de factores de crecimiento como el “insulin-like growth factor” (IGF-I) (Pfeifle y cols., 1981; Basnkota y cols., 1989). El IGF-I es un factor clave en los procesos de crecimiento tisular, y se encuentra muy relacionado con la insulina. Fue descrito por primera vez por Salmon y Daughaday en 1957, quienes le denominaron “factor con actividad de sulfación” sugiriendo que sería el factor a través del cual la hormona del crecimiento (GH) ejercería sus efectos tróficos. En años posteriores, además del IGF-I, se identificó otro péptido de características similares al que se denominó IGF-II. Sin embargo, parece claramente demostrado que el IGF-I está regulado por la GH mientras que el IGF-II no lo está (Baxter, 1988). Estos productos circulan por la sangre fuertemente ligados a unas proteínas transportadoras. La proteína que se encuentra ligada al IGF-I está regulada por la GH. Los péptidos IGF-I e IGF-II guardan una alta homología con la molécula de proinsulina. En base a estas analogías se pueden explicar las interacciones funcionales de los IGFs y de la insulina a nivel del receptor. La insulina actuando indirectamente a través del receptor del IGF-I causa hipertrofia de la pared vascular y estrechamiento del lumen de los vasos de resistencia implicados en la regulación de la presión arterial sistémica (Lever, 1986). Las acciones de la insulina y del IGF-1 sobre la hipertrofia vascular se basan en el incremento del tamaño y en el número de miocitos (Mulvany y cols., 1978), así como el aumento de proteínas, DNA y colágeno (Brayden y cols., 1983). Los receptores para el IGF-1 e insulina se encuentran, entre otros órganos, en los vasos sanguíneos (Kaiser y cols., 1985). Asimismo, numerosos estudios *in vitro* han demostrado que la insulina es capaz de estimular la proliferación del músculo liso de la pared arterial (Scout 1979).

Como hemos comentado, el incremento en la actividad del intercambiador $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ producido por la acción de la insulina, puede dar lugar a la alcalinización celular que produce un efecto estimulador de síntesis de proteínas y de proliferación celular (Aviv y cols., 1988) que a su vez pueden promover el remodelado vascular, la hipertrofia así como acelerar la aterosclerosis. Los factores de crecimiento tales como la AII activan este intercambiador de modo que el citoplasma se alcaliniza y estimula el crecimiento celular (Vallega y cols., 1988). Por otra parte la alcalinización del músculo liso vascular incrementa la reactividad vascular frente a diferentes estímulos como la noradrenalina, la A II y la sobrecarga salina.

1.5.1.5.- Efecto de la retención de sodio a nivel renal

Otro mecanismo por el cual la insulina puede causar hipertensión es la retención renal de sodio estimulada por insulina. Fue Atchley, en 1933 el primero que sugirió que la insulina afecta al manejo renal de sodio. Posteriormente, Miller y Bogdonoff en 1954 observaron una reducción de la excreción urinaria de sodio tras la administración de insulina a sujetos normales. DeFronzo en 1981, demostró el efecto antinatriurético que la insulina ejercía sobre el riñón. Este efecto resulta más evidente en pacientes diabéticos (Saudek y cols., 1974, O'Hare y cols., 1982). Este hecho también fue claramente demostrado por Smith y DeFronzo en 1983, quienes observaron que la inyección de insulina en humanos produce una disminución de la excreción de sodio. Esta antinatriuresis parece ser independiente de la kalemia, el SRA y las prostaglandinas, estando más en relación con la ADH y el aumento del calcio extracelular. La sugerencia sería que este efecto agudo podría evitar la pérdida postprandial de sodio debida a las modificaciones de la hemodinámica intrarrenal secundarias a la ingesta de aminoácidos (Gupta y cols., 1992). La insulina no parece afectar a la hemodinámica renal, pero tiene una acción directa sobre el túbulo renal. Mediante los estudios con clamp hiperglucémico hiperinsulinémico y con clamp normoglucémico-hiperinsulinémico, DeFronzo en 1978 demostró que tanto el aclaramiento de sodio como la excreción renal de sodio disminuían significativamente debido a la hiperinsulinemia, sin producirse modificaciones en el flujo plasmático renal, ni en la tasa de filtración glomerular.

Con técnicas de micropunción se ha determinado que el efecto de la insulina sobre el transporte de sodio se produce en el túbulo contorneado distal o en la parte ascendente del asa de Henle. Mediante experimentos en riñón aislado con infusiones de insulina en la arteria renal se ha demostrado que este efecto antinatriurético es directo o primario y no secundario a las alteraciones metabólicas y hemodinámicas.

La retención de sodio en caso de hiperinsulinismo en una etapa inicial se traduciría en una hipervolemia, a continuación el organismo llevaría a cabo una respuesta adaptativa que elevaría la presión arterial, con lo que aumentaría la presión de perfusión renal y se produciría una natriuresis de presión. Así, debido a la existencia de diversos mecanismos contrarreguladores, la retención de sodio inducida por insulina no se mantiene a largo plazo. En situaciones de hipervolemia y en distintos tipos de hipertensión se ha detectado una disminución de la actividad de la bomba Na^+/K^+ -ATPasa, inducida por la presencia de un factor endógeno similar a la digoxina (digoxin-like factor) que produce inhibición de la bomba Na^+/K^+ y se comporta como natriurético. Fue Blaunstein en 1977 quién sugirió que esta “hormona natriurética” circulante, inhibidora de la Na^+/K^+ -ATPasa mantenía el balance de sodio, limitando así la retención renal de sodio a costa de un aumento del sodio intracelular con deplección de potasio, lo que a su vez conlleva inhibición del intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, causando acumulo de calcio intracelular y en definitiva, hiperreactividad vascular e hipertensión.

1.6.- INTERRELACIÓN ENTRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y OTRAS PATOLOGÍAS

1.6.1.- Dislipidemia y aterosclerosis

La insulina es una hormona con capacidad aterogénica (Scout, 1969; Scout 1991). La placa aterosclerótica, en su forma madura, está compuesta de lípidos, colágeno, células espumosas y en ella se observa proliferación de células del músculo liso (Ross, 1986). La elevada concentración plasmática de insulina afecta a todos estos constituyentes. Se ha demostrado que la incubación con insulina de células musculares lisas, estimula la proliferación

de éstas. Tras la adición de insulina *in vivo* o *in vitro* en células musculares lisas, fibroblastos y células mononucleares se produce un incremento de la actividad del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL), así como un aumento en la síntesis de colesterol y triglicéridos. El efecto estimulador de la insulina sobre la síntesis lipídica resulta de su acción sobre las enzimas lipogénicas: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, enzima málica y 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa. Además de promover el desarrollo de la placa aterosclerótica, la hiperinsulinemia inhibe la reabsorción de placas una vez formadas. La insulina es también capaz de estimular la síntesis de colesterol, quizá a través de la activación de la HMG CoA reductasa, enzima clave en la síntesis de colesterol.

Cruz y cols. en 1961, demostraron que una infusión continua de insulina a bajas dosis en arteria femoral canina causaba una marcada proliferación de la íntima y la media con acumulación de colesterol y ácidos grasos. Cuando los animales fueron tratados con alloxano, que destruye las células β , productoras de insulina, se atenuaba el desarrollo de aterosclerosis.

Existen numerosos trabajos *in vivo* e *in vitro* que relacionan la insulina con el desarrollo de aterosclerosis. Aunque no hay que olvidar que el desarrollo de la aterosclerosis en el síndrome de resistencia a la insulina es mucho más complejo y envuelve factores adicionales a la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina.

Como ya se ha comentado, la hipertrigliceridemia y la disminución del colesterol HDL son alteraciones que se observan frecuentemente en pacientes con resistencia a la insulina (DeFronzo, 1991). Cuando en el tejido muscular se encuentra disminuida la respuesta a insulina, la resultante hiperinsulinemia implica dos importantes efectos sobre el metabolismo de las grasas. Por un lado, se incrementa la síntesis lipídica por el hígado, estos lípidos se depositan como tejido adiposo y triglicéridos. Por otro lado, se incrementará la captación de glucosa por los adipocitos aumentando la síntesis de triglicéridos.

Existen dos factores que determinan la concentración de VLDL en plasma: la velocidad de síntesis de VLDL hepática y la velocidad de eliminación de VLDL de los tejidos periféricos

(Ginsberg, 1987). La síntesis de VLDL hepática es regulada tanto por la concentración de insulina plasmática como por la disponibilidad de sustrato (ácidos grasos libres y glucosa). El incremento en la secreción de insulina como respuesta compensatoria a la resistencia a la insulina implica un aumento de la síntesis de VLDL por el hígado. La eliminación de VLDL de la circulación periférica es regulada por la lipasa lipoprotéica, a su vez, esta enzima está regulada por la concentración de insulina plasmática (Brunzell, 1979). La combinación de la síntesis aumentada de VLDL junto con una menor acción de la lipasa lipoprotéica causan una elevación de la concentración de VLDL y triglicéridos plasmáticos. La insulina es el principal factor de regulación de la lipasa lipoprotéica (Yki-Jarvinen y cols., 1984) y tanto la síntesis como la actividad de esta enzima puede encontrarse reducida en estados de resistencia a la insulina.

Aunque la mayoría de las alteraciones del metabolismo lipoprotéico en los pacientes con resistencia a la insulina se dan en el metabolismo de las VLDL, existen también efectos secundarios en el metabolismo de las LDL y de las HDL. Así los niveles de LDL pueden encontrarse incrementados como resultado de una reducción del receptor de LDL. Por tanto, existen evidencias que indican que la hiperinsulinemia juega un importante papel en el desarrollo de las anormalidades lipídicas. Pero hay que tener en cuenta que aunque la hiperinsulinemia pueda ser la causa final que da lugar a estas alteraciones en el metabolismo lipídico, es la resistencia a la insulina la que implica la aparición de la hiperinsulinemia. Por tanto, podríamos considerar que es la resistencia a la insulina la causante de la hipertrigliceridemia.

1.6.2.- Diabetes mellitus

Clínicamente, la diabetes mellitus (DM) se caracteriza por una serie de alteraciones metabólicas y hormonales cuya consecuencia final va a ser un daño en múltiples órganos y sistemas. En 1936, Himsworth observó que un gran número de pacientes diabéticos presentaban, además, resistencia a la acción de la insulina. Basándose en este hecho, este autor dividió a los pacientes diabéticos en dos categorías:

- Diabéticos sensibles a la acción de la insulina
- Diabéticos resistentes a la acción de la insulina

Cuarenta años más tarde este criterio fue aceptado (National Diabetes Data Group) y actualmente conocemos los términos diabetes mellitus dependiente de insulina (IDDM o DM tipo I) y diabetes mellitus independiente de insulina (NIDDM o DM tipo II).

La DM tipo I, es en la mayor parte de los casos, consecuencia de una disminución de la secreción de insulina por las células β de los islotes de Langerhans. La herencia desempeña un papel importante en este tipo de diabetes. A veces lo hace aumentando la susceptibilidad de las células β a sufrir la destrucción por virus o favoreciendo el desarrollo de anticuerpos autoinmunitarios contra las células β , causando así también su destrucción. En otros casos, parece haber una simple tendencia hereditaria a la degeneración de las células β . Este tipo de diabetes se desarrolla durante la adolescencia; los síntomas comienzan algo abruptamente, y el control de la enfermedad casi siempre requiere terapia de sustitución con insulina. En la DM tipo I también puede darse resistencia a la insulina, incluso aunque los requerimientos terapéuticos de insulina no resulten elevados (DeFronzo y cols., 1982).

La DM tipo II se caracteriza por una resistencia a la insulina desde el primer momento del desarrollo de la enfermedad, que desencadena un aumento en la secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas que se manifiesta como la aparición de hiperinsulinismo. Hasta este punto los niveles de glucosa plasmáticos se mantienen normales, ya que la resistencia a la insulina es compensada por el hiperinsulinismo (DeFronzo, 1988). Pero llega un momento, en que las células β no son capaces de responder con un incremento suficiente de la secreción de insulina, ya sea por agotamiento o desensitización, se produce entonces un déficit relativo de insulina que cursará con hiperglucemia, coexistiendo generalmente con hiperinsulinismo, excepto en fases avanzadas de la DM tipo II en que la secreción de insulina puede encontrarse muy reducida (DeFronzo, 1991).

1.6.3.- Obesidad

La distribución de grasa corporal constituye un pronóstico importante de las complicaciones metabólicas de la obesidad (O'Dea, 1992). Concretamente, la obesidad de la parte superior del cuerpo está firmemente asociada con hiperlipidemia, hipertensión y DM tipo II. Los individuos con obesidad asociada a la parte superior del cuerpo tienen un número normal de células adiposas, pero de un tamaño mucho mayor. Este patrón de tamaño celular puede estar producido por comer en exceso durante la edad adulta. Se ha demostrado que el aumento de tamaño de las células adiposas reduce el número de receptores de insulina sobre su superficie. El organismo produce entonces más insulina para compensar el menor número de receptores; la hiperinsulinemia puede así traducirse en una regulación decreciente de los receptores de insulina de otros tejidos (Hadley, 1997).

Es un hecho conocido que la secreción de insulina se asocia a la abundancia de energía, es decir, cuando existe una gran abundancia de alimentos suministradores de energía en la dieta, principalmente hidratos de carbono y proteínas, se secreta mucha insulina. Esto ocurre especialmente cuando la dieta contiene un exceso de hidratos de carbono. A su vez, la insulina participa en el almacenamiento del exceso de sustancias energéticas, así hace que los hidratos de carbono se almacenen en forma de glucógeno principalmente en el hígado y los músculos y que las grasas se almacenen en el tejido adiposo.

La obesidad se asocia a otras alteraciones como son la hiperlipidemia, la hipertensión y la diabetes. Rocchini y cols. en 1987 y en 1989 demostraron la aparición de estas mismas alteraciones en perros que eran alimentados con una dieta rica en grasas.

Numerosos experimentos de laboratorio en roedores han demostrado que un incremento en la ingesta de hidratos de carbono y grasas afecta a la actividad del SNS, sin necesidad de un incremento en la ingesta calórica total (Schwartz y cols., 1983).

Hipertensión arterial y resistencia a la insulina en la diabetes mellitus tipo II y en la obesidad

La resistencia a la insulina es pues una característica común tanto en la obesidad como en la DM tipo II (Figura 10). Pero estos dos grupos de pacientes presentan diferencias en cuanto a la concentración de insulina plasmática a pesar de que muestren un grado similar de resistencia a la insulina (DeFronzo y Ferrannini 1991). En los pacientes diabéticos normales de peso la concentración de insulina plasmática, aunque resulta elevada en comparación con la de sujetos controles, es significativamente menor que la que muestran los individuos no diabéticos y obesos. Los individuos diabéticos presentan hiperinsulinemia desde una temprana evolución de su enfermedad, entre otras causas la resistencia a la insulina puede ser de origen genético. En estos pacientes llega un momento en que el aumento de la tasa de secreción de insulina no puede mantenerse ya que la respuesta compensatoria de las células β no es del todo perfecta. Los niveles de insulina pueden llegar a valores por debajo de los normales y es entonces cuando puede aparecer la intolerancia a la glucosa. Sin embargo, en los pacientes obesos en los que la elevada ingesta calórica ha producido la aparición de la resistencia a la insulina, el aumento de secreción de insulina por parte de las células β es capaz de compensar la resistencia a la insulina, ya que la respuesta de estas células es mejor en los obesos que en los diabéticos. Como hemos dicho anteriormente ambos grupos de pacientes presentan hipertensión, alteraciones en el perfil lipídico y aterosclerosis. Los elevados niveles de insulina plasmática pueden contribuir al desarrollo de estas alteraciones (DeFronzo, 1991).

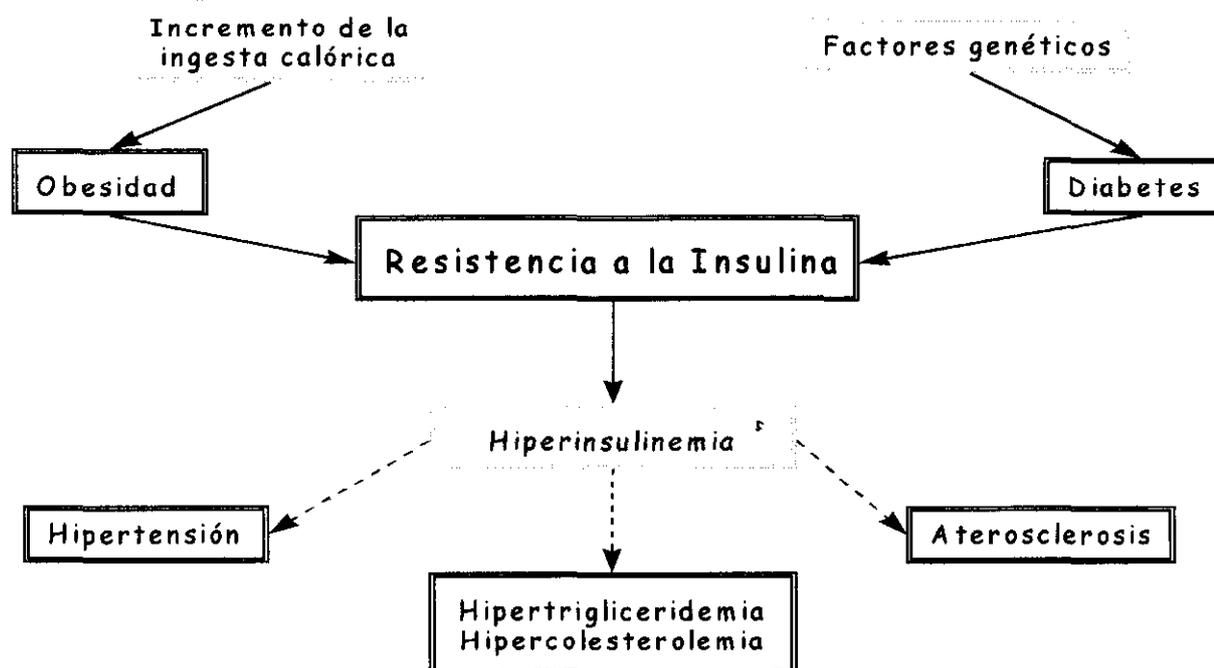


Figura 10.- Resistencia a la insulina y aparición de las alteraciones del síndrome X.

1.7.- EFECTOS DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA

Es un hecho conocido que el tratamiento antihipertensivo puede mejorar el metabolismo de la glucosa, siendo así beneficioso en los pacientes en los que existe una patología con resistencia a la insulina asociada a la hipertensión. Sin embargo, es importante destacar que existen algunos fármacos antihipertensivos, como los diuréticos y los β -bloqueantes, que empeoran la sensibilidad a la insulina. El papel de los bloqueantes de los canales de calcio sobre este punto, resulta controvertido, ya que existen trabajos en los que éstos fármacos mejoran la resistencia a la insulina en individuos hipertensos y otros en los que la empeoran. Por otra parte, los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECA) y los antagonistas de los receptores AT_1 de AII mejoran la sensibilidad a la insulina en animales de experimentación y en hipertensos esenciales, sugiriendo que la AII juega un importante papel en el padecimiento de estas enfermedades (Pollare y cols., 1989 a; Iyer y cols., 1996).

La reducción de peso en los pacientes hipertensos suele dar lugar a una reducción en los niveles de presión arterial y además está relacionada con la mejora de la resistencia a la insulina que aparece en los pacientes obesos. Las dietas más recomendadas para este tipo de pacientes son aquellas bajas en contenido graso, moderadas en carbohidratos y ricas en fibra (Kaplan, 1992).

El ejercicio regular y aeróbico tiene un efecto antihipertensivo y además incrementa la eficacia antihipertensiva que supone la pérdida de peso. Además mejora la sensibilidad a la insulina. Así, la disminución de la presión sanguínea se encuentra claramente asociada con la disminución de los niveles de insulina plasmática.

Otras terapias no farmacológicas son capaces de disminuir la presión arterial a través de la disminución de la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina. Dentro de este grupo se incluye una moderada ingesta de sodio en la dieta, la baja ingesta de alcohol, la práctica de técnicas de relajación, etc (Kaplan, 1992).

A pesar de la mejoría inducida por un tratamiento no farmacológico, la mayoría de los pacientes hipertensos y con resistencia a la insulina requieren un tratamiento farmacológico para conseguir la eficacia adecuada.

Los diuréticos tiazídicos no son los más recomendados en los pacientes diabéticos porque provocan a menudo el agravamiento de la intolerancia a la glucosa (Conn, 1965). El mecanismo que se ha propuesto para explicar la intolerancia a la glucosa que producen estos fármacos es la aparición de hipocalemia e hipomagnesemia que por un lado implica una mayor producción de proinsulina, biológicamente inactiva y por otro lado disminuye la actividad secretoria β -adrenérgica. Se ha demostrado una correlación entre la disminución del potasio corporal total y el defecto de la secreción de insulina (Rowe y cols., 1980). Este defecto en la secreción de insulina es el responsable de la aparición de la intolerancia a la glucosa. Por otra parte, las alteraciones de LDL y VLDL suponen un nuevo factor de riesgo añadido, especialmente importante en el caso de los diabéticos (Bloomgarden

ZT y cols., 1984). Además del empeoramiento que producen respecto a la secreción de insulina, Pollare y cols en 1989 observaron que los diuréticos del grupo de las tiazidas disminuían la captación de glucosa estimulada por insulina, dando lugar a hiperglicemia. Estos fármacos tienden también a incrementar la secreción de glucagón, aumentando así la producción de glucosa hepática, consecuencia que agrava aún más la hiperglicemia existente.

Los diuréticos del asa tienen menor eficacia antihipertensiva que las tiazidas a dosis similares, siendo también menor su efecto sobre la tolerancia a la glucosa (Robinson y cols., 1981).

Los fármacos β -bloqueantes empeoran el metabolismo de la glucosa y su administración crónica puede implicar un efecto diabetogénico. El bloqueo de los receptores β inhibe la secreción de insulina mediada por estímulo β y son numerosas las publicaciones sobre la intolerancia a la glucosa en pacientes con diabetes mellitus tipo II tratados con β -bloqueantes (Fuh y cols., 1990). Los mecanismos que puede explicar alteraciones en el metabolismo de la glucosa producidas por los β -bloqueantes fueron propuestas por Houston en 1988 y se basan en el incremento en la producción de glucosa hepática, la disminución de la sensibilidad periférica de la insulina, la inhibición de la utilización periférica de la glucosa y la elevación de los niveles de la hormona de crecimiento. Además, los β -bloqueantes producen una elevación de las VLDL y una disminución de las HDL (Fuh y cols., 1990).

Existen estudios que muestran que los α -antagonistas mejoran la sensibilidad a la insulina, así Pollare y cols., en 1988 demostraron la eficacia del tratamiento con prazosin sobre la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Por otro lado, el tratamiento con prazosin disminuye el colesterol total y los triglicéridos.

Otros α -antagonistas como el terazosin y el doxazosin presentan efectos favorables sobre estas alteraciones metabólicas. El mecanismo por el que éstos fármacos favorecen el metabolismo de la glucosa podría ser debido al incremento que producen en la secreción de glucosa por parte de las células β pancreáticas (Kaplan, 1992).

Los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECA) mejoran la resistencia a la insulina mediante un incremento de la sensibilidad a ésta en el músculo esquelético, siendo en este tejido donde se produce principalmente la resistencia a la insulina tanto en la hipertensión esencial como en la diabetes tipo II. En estudios con clamp normoglucémico se ha demostrado que el captopril aumenta la sensibilidad a la insulina para la captación de glucosa por parte del músculo esquelético (Pollare y cols., 1989). Los mecanismos a través de los cuales los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina producen estos efectos se basan en una combinación de factores que incluyen la vasodilatación, el incremento del flujo sanguíneo al músculo esquelético, el bloqueo del SRA y el incremento en los niveles de cininas. Un gran número de autores ha demostrado que los IECAs mediante el incremento del flujo sanguíneo al tejido producen un aumento en la captación de glucosa por parte de éste (Kodama y cols., 1990).

Por otra parte, es un hecho conocido que la AII puede ejercer acciones gluconeogénicas y glicogenolíticas (Kneer y cols., 1983; De Witt y cols., 1983) que a su vez incrementan la secreción de noradrenalina a través del SNS. Por esta razón la inactivación del SRA por parte de los IECA puede tener efectos beneficiosos sobre la tolerancia a la glucosa.

La ECA o la cininasa II juega un papel fundamental, no sólo en el SRA, sino también en el sistema calicreína-cinina. La inhibición de la degradación de cininas produce un incremento en los niveles sistémicos de éstas. Es un hecho conocido que las cininas están implicadas en la modulación local de la sensibilidad a la insulina por parte del músculo esquelético (Jauch y cols., 1987).

El efecto de los bloqueantes de los canales de calcio sobre la resistencia a la insulina es un hecho contradictorio debido a que los estudios realizados no muestran resultados homogéneos. Pollare y cols. en 1989 observaron, mediante el uso de la técnica del clamp hiperinsulinémico, que el tratamiento con diltiazem no ejercía ningún efecto sobre la respuesta a glucosa ni sobre la sensibilidad a la insulina en sujetos hipertensos. Sin embargo, Berne y cols. en 1991 observaron que el tratamiento con nifedipino incrementaba los niveles de glucosa

en pacientes diabéticos. Existen evidencias de que algunos de los bloqueantes de los canales de calcio pueden incrementar la actividad del SNS, causando hiperglicemia que estimula la secreción de insulina que conlleva a la aparición de resistencia a la insulina. Los bloqueantes de los canales de calcio pueden empeorar la secreción de insulina a través de las células β mediante el bloqueo de los canales de calcio dependientes de voltaje empeorando la homeostasis de la glucosa en pacientes hipertensos (Gambardella y cols., 1993). Sin embargo, existen estudios en pacientes con bloqueantes de los canales de calcio, como el nitrendipino, en los que no se observan modificaciones en la homeostasis de la glucosa (Trost y cols., 1985). Además, existen estudios (Tentoria y cols., 1989) que sugieren que tanto la secreción de insulina como el control glicémico puede ser mejorado mediante el tratamiento con bloqueantes de los canales de calcio en los pacientes diabéticos.

Como hemos descrito anteriormente una de las causas por las que los IECAs mejoran la resistencia a la insulina es mediante el bloqueo del SRA que elimina parte de la síntesis de AII. Por lo tanto, el efecto beneficioso de bloqueantes específicos del receptor AT_1 de AII sobre la patogénesis de la resistencia a la insulina en la hipertensión, podría apoyar aún más la idea de que es la AII la causa de ambas alteraciones. En 1994, Rao sugirió que la AII jugaba un importante papel en el desarrollo de la resistencia a la insulina en ratas. Iimura y cols en 1995 demostraron que tanto el tratamiento crónico con delapril, un IECA, como con TCV-116, un antagonista del receptor AT_1 de AII, eran igualmente efectivos en la mejora de la sensibilidad a la insulina en ratas alimentadas con fructosa. Asimismo, Iyer y cols. en 1996 demostraron que tanto el tratamiento agudo como crónico con losartan mejoraba la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratas alimentadas con fructosa. Estos resultados sugieren que la AII está implicada en la resistencia a la insulina que se observa durante el desarrollo de hipertensión en la rata alimentada con fructosa.

OBJETIVOS

- 1.- Estudiar en ratas las consecuencias de la administración de una dieta rica en fructosa sobre la presión arterial, la función renal, los sistemas vasoactivos y el metabolismo glucídico y lipídico.

- 2.- Estudiar las consecuencias de la administración de una dieta rica en fructosa sobre la reactividad vascular en vasos de resistencia y conducción.

- 3.- Estudiar los efectos del tratamiento con un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina II (ECA), un bloqueante de los canales de calcio y un antagonista de los receptores AT₁ de angiotensina II sobre las alteraciones presoras, metabólicas y vasculares producidas por dicha dieta.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley con cuatro semanas de edad y un peso inicial de 120 ± 3 g al comienzo de los estudios.

Los animales tenían libre acceso a la comida, al agua de bebida y se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas bajo condiciones controladas de temperatura a lo largo de todo el experimento. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo a las normas de la Unión Europea para el tratamiento ético de los animales de experimentación.

3.2.- COMPOSICIÓN DE LA DIETA

Se emplearon dos tipos de dietas:

- Dieta control:

66% de almidón	
22% de proteínas:	4g de metionina 216g de caseína
12% de grasas:	120g de aceite de oliva
Sal:	40g de cloruro sódico 15g de hidrógeno carbonato potásico
Colina:	1.48g
Acido nicotínico:	0.044g
Complejo vitamínico:	1.48g
Complejo mineral:	9.428g

- Dieta de fructosa:

66% de fructosa	
22% de proteínas:	4g de metionina 216g de caseína
12% de grasas:	120g de aceite de oliva
Sales:	40g de cloruro sódico 15g de hidrógeno carbonato potásico
Colina:	1.48g
Acido nicotínico:	0.044g
Complejo vitamínico:	1.48g
Complejo mineral:	9.428g

3.3.- METODOS EXPERIMENTALES

3.3.1.- Medida de presión arterial

La presión arterial sistólica se determinó mediante un método indirecto que consiste en la medida de la presión arterial en una arteria periférica en la cola de los animales (arteria caudal) con un electroesfigmomanómetro (Narco Bio-Systems, Houston, TX, EEUU).

Diez días antes del inicio del experimento las ratas fueron acostumbradas, diariamente, a la medida de presión arterial por este método. Cada día las ratas eran trasladadas en sus jaulas de mantenimiento a una habitación a 28^oC durante dos horas con objeto de dilatar la arteria caudal y facilitar la audición del latido. Una vez que se consideró que las ratas no estaban sometidas a estrés por el método de medida, se determinó la presión arterial sistólica cuyo valor se obtuvo para cada animal realizándose ocho medidas consecutivas durante dos días sucesivos a la misma hora. Finalmente se calculó la media aritmética de todas las medidas rechazándose los valores máximo y mínimo.

Con objeto de validar el método indirecto de medida de la presión arterial anteriormente descrito se comparó con un método de medida directa. Para ello, se tomaron ocho animales al azar a los que se les implantó un catéter en la arteria femoral. Dos días después de la implantación se conectó el catéter a un transductor de presión (modelo P23XL, Spectromed, Oxnard, CA, EEUU) y se registró la presión arterial sistólica en un polígrafo (7E, Grass Instruments, Quincy, MA, EEUU) durante 60 minutos. El estudio comparativo mostró una correlación estadística media del 96% entre el valor de presión arterial obtenido por el método directo y el indirecto.

3.3.2.- Recogida de muestras

3.3.2.1.- Medida de volumen urinario y volumen de bebida

Para realizar estas determinaciones, los animales se mantuvieron en jaulas metabólicas individuales (Tecniplast, 1700, Buguggiate, VA, Italia) que permiten la separación idónea de la orina sin contaminación de las heces así como de la comida y la bebida desechadas por el animal. Estas jaulas disponen de bebederos graduados que permiten evaluar la cantidad de agua ingerida por el animal. La medida del volumen urinario y de bebida, se realizó en periodos de 24 horas. Previamente a la valoración de estos parámetros las ratas permanecieron 48 horas en las jaulas metabólicas para su acostumbramiento a las mismas.

3.3.2.2.- Obtención del plasma sanguíneo

Tras ligera anestesia de los animales con éter dietílico (Panreac, Barcelona), la sangre se extrajo de una de las venas yugulares por punción transcutánea a nivel de la clavícula. Tanto en las jeringas como en los tubos donde se recogieron las muestras de sangre se añadió EDTA al 2% (Sigma Chemical Co; St Louis, Missouri, EEUU) para evitar la coagulación. La sangre, mantenida en hielo, se centrifugó a 1500 g a 2-4°C durante 15 minutos, tras lo cual, se decantó el plasma y se almacenó a -20 °C para su posterior análisis.

3.3.3.- Determinaciones analíticas

3.3.3.1.- Medida de la excreción urinaria de sodio y potasio

Las concentraciones de estos electrolitos en orina se determinaron mediante un fotómetro de llama (modelo NAK-1, Meteor P.A.C.I.S.A., Madrid, España).

Los cálculos de la excreción urinaria de sodio y potasio se determinaron de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$UNaV = [Na] \times VU$$

$$UKV = [K] \times VU$$

Donde: UNaV y UKV son las tasas de excreción urinaria de sodio y potasio respectivamente expresadas en mmol/24 h. [Na] y [K] son las concentraciones urinarias de sodio y potasio respectivamente expresadas en mmol/ml. VU es el volumen urinario (ml/24h).

3.3.3.2- Medida del aclaramiento de creatinina plasmática

La concentración de creatinina plasmática se determinó por reacción colorimétrica (Medical Analysis Systems, INC; Camarillo, CA, EEUU) y la concentración de creatinina en orina por un método automatizado (CX3, Beckman).

El aclaramiento de creatinina se determinó como:

$$C_{cre} = \frac{Cre_u \text{ VU}}{Cre_p}$$

Donde C_{cre} : aclaramiento de creatinina (mg/min), Cre_u : concentración de creatinina urinaria (mg/dl), Cre_p : concentración de creatinina en plasma (mg/dl), VU: volumen urinario (ml/24h).

3.3.3.3- Determinación de parámetros metabólicos

Las concentraciones plasmáticas de triglicéridos se determinaron mediante una reacción colorimétrica (Medical Analysis Systems, INC, Camarillo, CA, EEUU). Las concentraciones plasmáticas de colesterol y glucosa fueron también determinadas mediante reacciones colorimétricas (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Alemania). Los niveles de insulina plasmáticos se determinaron mediante un método radioinmunológico (Inctar Co. Stillwater, MN, EEUU).

3.3.3.4- Determinaciones de factores hormonales vasoactivos

Utilizando métodos radioinmunológicos se determinó la actividad de renina plasmática (Sorin Biomedica, Saluggia, Italia), así como la concentración de aldosterona plasmática (DRG Instruments GmbH, Marburg, Alemania).

Para la determinación de la concentración urinaria de prostaglandina E_2 (PGE_2), prostaciclina (PGI_2), medida como el metabolito estable 6-ceto- $PGF1_\alpha$ y tromboxano A_2 (TXA_2), medido como el metabolito estable tromboxano B_2 (TXB_2), se emplearon radioinmunoensayos específicos (Advanced Magnetics Inc. Cambridge, MA, EEUU). Este tipo de metodología se empleo también para la determinación de endotelina-1 (ET-1) plasmática (Amersham International, Little Chalfont, Bucks, Inglaterra).

Para la determinación de las concentraciones plasmáticas de noradrenalina, adrenalina y dopamina, se empleó un método de cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica (Bioanalytical Systems 400, West Lafayette, IN, EEUU) usando el método previamente descrito por Hatton y cols. en 1989.

Para la medida de la concentración de nitritos urinarios se utilizó un método indirecto cuantitativo y colorimétrico, basado en una modificación de la reacción de Griess. (Griess, 1979)

3.3.4.- Test de sobrecarga oral de glucosa

Al final del periodo experimental de cuatro semanas, se realizó un test de sobrecarga oral de glucosa con objeto de determinar el grado de resistencia a la insulina. Para ello, los animales se mantuvieron una noche en ayuno, con libre acceso al agua de bebida. A la mañana siguiente se tomó una muestra de sangre (0.4 ml) de la cola para determinar los valores basales de glucosa e insulina. A continuación, los animales recibieron 1 ml/100 g de peso corporal de una solución de glucosa al 50% mediante una sonda esofágica. Se tomaron muestras de sangre de la cola de cada animal a los 15 (0.4 ml), 30 (0.4 ml), 60 (0.1 ml) y 90 (0.4 ml) minutos después de la administración oral de glucosa. Las muestras se recogieron en tubos de micro-hematocrito y fueron inmediatamente centrifugadas y se almacenaron a -20°C para la determinación de la concentración de glucosa e insulina mediante la metodología indicada en el apartado 3.3.3.3.

3.4.- ESTUDIOS DE REACTIVIDAD VASCULAR

3.4.1.- Preparación de lechos mesentéricos

Con el fin de estudiar la reactividad vascular en vasos de resistencia las ratas fueron decapitadas y desangradas, tras lo cual, se aisló la arteria mesentérica superior por su unión con la aorta abdominal y se limpió de grasa y tejido conectivo. El lecho vascular mesentérico (LVM) fue separado cuidadosamente de la pared intestinal y fue perfundido a un flujo constante de 2 ml/min mediante una bomba peristáltica con una solución de Krebs oxigenada a 37°C , que contenía

heparina, de la siguiente composición (mmol/L): NaCl 118.5, KCl 4.7, CaCl₂ 2.8, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.1, NaHCO₃ 25.0 y glucosa 11.1. El LVM se extrajo del animal y se conectó a un transductor de presión (modelo P23XL, Spectromed, Oxnard, CA, EEUU). Una vez que el LVM quedó limpio de sangre, se eliminó la heparina de la infusión de Krebs con la cual se siguió perfundiendo. La presión de perfusión se registró durante todo el experimento en un polígrafo (7E, Grass Instruments, Quincy, MA, EEUU). Cada preparación se dejó equilibrar hasta obtener una presión de perfusión estable durante 60 minutos antes de comenzar el estudio de los cambios en la presión de perfusión en respuesta a los distintos agentes vasoactivos. Considerando que el flujo de 2 ml/min era constante, las respuestas constrictoras o relajantes a los agentes vasoactivos fueron medidos como incrementos o decrementos de la presión de perfusión.

3.4.2.- Preparación de anillos de aorta

Con el fin de estudiar la reactividad vascular en vaso de conducción de gran calibre, tras la separación del LVM, se procedió a la extracción de la aorta abdominal que se colocó, inmediatamente, en una placa con solución de Krebs bicarbonatado frío, cuya composición fue la misma que la utilizada en los LVM. Después de eliminar cuidadosamente el tejido adventicio que rodea la aorta se cortaron segmentos arteriales de, aproximadamente, 3 mm de longitud.

Por la luz arterial de cada anillo o segmento, se introdujeron dos alambres rígidos de acero (150 micras de diámetro), uno de los cuales estaba fijo a la pared de un baño de órgano y el otro que se desplazaba paralelamente al anterior, estaba unido a un transductor de fuerza (modelo FT03, Grass Instruments, Quincy, MA, EEUU), y que, a su vez, se conectaba a un polígrafo (7E, Grass Instruments, Quincy, MA, EEUU) en donde se registraban los cambios de tensión isométrica desarrollada (Figura 11).

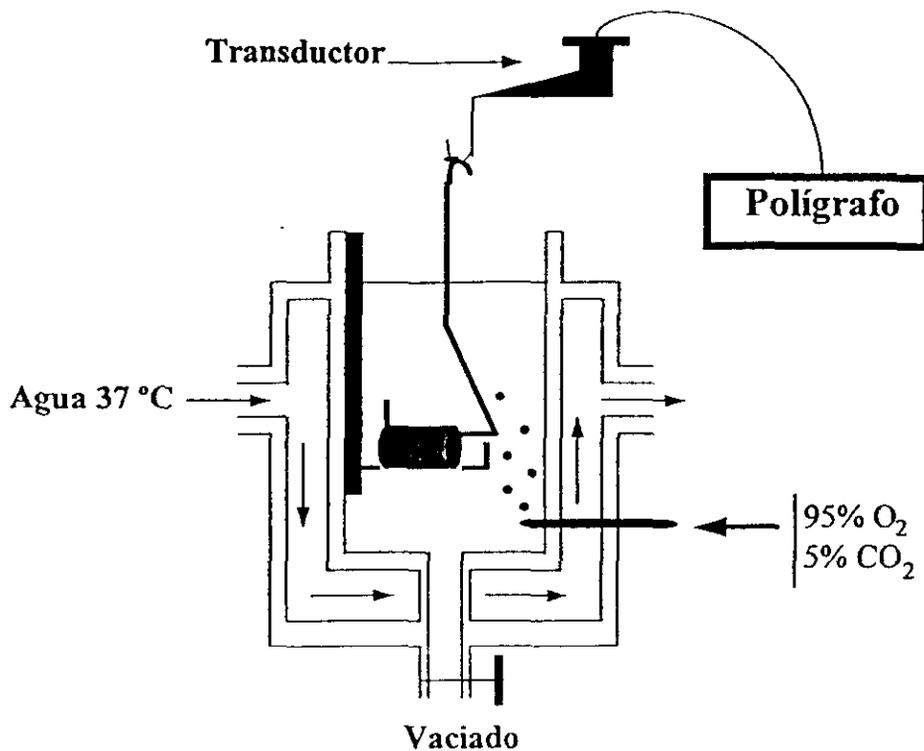


Figura 11.- Esquema de un baño para órganos.

Los segmentos arteriales se introdujeron en un baño de órgano que contenía 5 ml de una solución Krebs bicarbonatada a 37°C, continuamente oxigenada con carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂) que proporcionaba un pH final comprendido entre 7.4 y 7.6. Se aplicó a los anillos aórticos una tensión basal de dos gramos. En estudios preliminares encontramos que la tensión basal de dos gramos era la óptima requerida para la expresión de la contracción inducida por cloruro potásico (KCl) y para desarrollar la respuesta a los distintos agentes vasoactivos en anillos de aorta de rata. Esta tensión se fue reajustando periódicamente cada 15 minutos, a la vez que se cambiaba el medio de incubación. Transcurridos 60-90 minutos los segmentos aórticos se estabilizaron a dicha tensión basal. Se procedió entonces a comenzar el experimento. La presencia de un endotelio funcional fue testada al final de cada experimento valorando la vasorrelajación inducida por 10⁻⁵ mol/L de acetilcolina. Todos los anillos que presentaban una respuesta vasodilatadora inferior al 50% eran desechados.

Tras finalizar el experimento los anillos se dejaban secar, al menos, durante 24 horas antes de ser pesados en una microbalanza.

3.5.- SOLUCIONES Y FÁRMACOS UTILIZADOS.

Acetilcolina (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
Acido nicotínico (dieta) (SIGMA Chemical Co., St Louis MO, EEUU)
Almidón (dieta) (Almacén Químico Riesgo)
Angiotensina II (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
CaCl₂ (Panreac, Barcelona, España)
Caseína (dieta) (Almacén Químico Riesgo)
Cloruro potásico (KCl), (Merck, Darmstadt, Alemania)
Cloruro sódico (NaCl) (Merck, Darmstadt, Alemania)
Colina (dieta) (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
Complejo mineral (dieta) (SIGMA Chemical Co., St Louis MO, EEUU)
Complejo vitamínico (dieta) (SIGMA Chemical Co., St Louis MO, EEUU)
Diltiazem (donado por Parke-Davis, SA)
EDTA (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
Endotelina-1 (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
Eter dietílico anestésico (Panreac, Barcelona, España)
Fenilefrina (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
Fructosa (dieta) (Almacén Químico Riesgo)
Glucosa (Merck, Darmstadt, Alemania)
Heparina 5% (Laboratorios Leo S.A., Madrid, España)
KH₂PO₄ (Probus, Badalona, España)
Losartan (donado por Merck, Sharp and Dohme, Madrid, España)
Metionina (dieta) (Almacén Químico Riesgo)
MgSO₄ (Probus, Badalona, España)
NaCl (Panreac, Barcelona, España)
NaHCO₃ (Panreac, Barcelona, España)
N^G-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME) (SIGMA Chemical Co, St Louis MO,EEUU)
Nitroprusiato sódico (SIGMA Chemical Co., St Louis MO, EEUU)
Quinapril (donado por Parke-Davis, SA)

Los agentes vasoactivos utilizados, para el estudio de reactividad vascular tanto en lecho mesentérico como en anillo de aorta, se disolvieron en agua destilada. Las soluciones de partida se prepararon a una concentración inicial de (10^{-3} M) y se mantuvieron a -20 °C. Diariamente las diluciones de los distintos agentes se preparaban en Krebs a unas concentraciones previamente calculadas para el volumen de 5 ml que contenían los baños de órganos, obteniéndose así la concentración molar final descrita en los distintos diseños experimentales.

3.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados se han expresado como la media \pm el error estándar de la media (eem), siendo *n* el número de animales utilizados en cada experimento. Para comparar los distintos parámetros estudiados entre los diversos grupos se utilizó un test estadístico ANOVA de dos vías. La hipótesis nula fue rechazada cuando el valor de *p* era menor que 0.05. En estos casos, se utilizó como análisis *a posteriori* el test de Newman-Keuls.

En los resultados de los estudios de reactividad vascular en lechos mesentéricos, las respuestas constrictoras se midieron como incrementos de la presión de perfusión inducida por el flujo constante de 2 ml/min. Las respuestas relajantes se midieron como decrementos de la presión de perfusión (en las gráficas de resultados aparece representado como Δ PP) respecto de una contracción submáxima de fenilefrina (10^{-6} - 10^{-5} M). Los resultados de los estudios de reactividad vascular en anillos de aorta se determinaron como cambios en la tensión isométrica inducidos por los distintos agonistas vasoconstrictores. Estos datos se expresaron como el porcentaje respecto de la contracción producida por KCl (80 mM). La respuesta inducida por KCl fue normalizada por el peso seco de los anillos vasculares. La respuesta a KCl fue expresada como gramos de tensión por miligramo de tejido (g/mg de tejido). Para los restantes agentes vasodilatadores la respuesta se expresó como el porcentaje de reducción de la tensión respecto a la concentración submáxima de fenilefrina alcanzada.

La elaboración de las pruebas estadísticas se realizó con el apoyo informático del paquete estadístico CSS (Tulka, OK, EEUU).

DISEÑOS EXPERIMENTALES

3.7.- ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR LA ADMINISTRACIÓN DE UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA EN RATAS

Con objeto de desarrollar un modelo de hipertensión leve asociado a resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia se administró una dieta con elevado contenido de fructosa a ratas normotensas de la cepa Sprague-Dawley durante cuatro semanas.

En estudios previos se determinó que cuatro semanas, era el tiempo suficiente de administración de la dieta de fructosa para conseguir las características metabólicas que presenta el modelo experimental del presente trabajo: hipertensión, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia. Dicho modelo se asemeja al llamado Síndrome X metabólico humano, descrito por Reaven en 1988.

En este estudio se valoró la presión arterial, la función renal, los factores metabólicos y vasoactivos en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante cuatro semanas.

Se ha descrito que la hipertensión arterial parece estar asociada a alteraciones de la reactividad vascular, es decir, respuestas alteradas a la acción de distintos factores vasodilatadores o vasoconstrictores. Con objeto de determinar las causas que producen la hipertensión arterial en ratas Sprague-Dawley alimentadas con fructosa se hicieron estudios sobre reactividad vascular en vasos de resistencia y conducción.

Un grupo de animales (n=7) recibió la dieta rica en fructosa durante cuatro semanas. Paralelamente otro grupo de animales (n=7) recibió la dieta de almidón y se utilizó como grupo control.

3.7.1.- Presión arterial

Al final de las cuatro semanas de alimentación con la dieta control o con la dieta rica en fructosa, se determinó la presión arterial sistólica, medida indirectamente en la cola de los animales.

3.7.2.- Función renal

Se determinaron los siguientes parámetros:

- Volumen de bebida en 24 horas.
- Volumen urinario en 24 horas.
- Concentraciones de sodio y potasio en orina.
- Concentraciones de creatinina en orina y plasma para la determinación del aclaramiento de creatinina.

3.7.3.- Factores metabólicos y test de sobrecarga oral de glucosa

Para estudiar las características metabólicas del modelo experimental se analizaron las concentraciones plasmáticas de:

- Insulina
- Glucosa
- Colesterol total
- Triglicéridos

Con objeto de determinar el grado de resistencia a la insulina se realizó un **test de sobrecarga oral de glucosa**, en el cual se midieron las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina basalmente, a los 15, 30, 60 y 90 minutos después de una sobrecarga oral de glucosa.

3.7.4.- Factores hormonales vasoactivos

Para estudiar las características hormonales vasoactivas del modelo experimental se determinaron las concentraciones urinarias de:

- Prostaglandina E₂ (PGE₂)
- 6-ceto-prostaglandina F_{1α} (6-ceto-PGF_{1α})
- Tromboxano B₂ (TXB₂)
- Nitritos

Asimismo se determinaron las concentraciones plasmáticas de:

- Renina y aldosterona
- Noradrenalina, adrenalina y dopamina
- Endotelina-1

3.7.5.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos

Con objeto de estudiar el efecto de la administración de una dieta rica en fructosa sobre la reactividad vascular en un territorio de resistencia se valoraron las respuestas constrictoras y vasodilatadoras a distintos agentes vasoactivos en lechos vasculares mesentéricos.

3.7.5.1.- Estudio de la respuesta vasoconstrictora

Para determinar el efecto de la dieta rica en fructosa sobre los mecanismos intrínsecos de contracción de las células del músculo liso vascular, se evaluó la contracción inducida por el vasoconstrictor independiente de receptor KCl (60 μmol).

Asimismo, se valoró la respuesta contráctil dependiente de receptor inducida por los siguientes agentes vasoconstrictores:

- Angiotensina II (1 nmol).
- Endotelina 1 (10 pmol)
- Perfusión con una infusión continua del agonista α adrenérgico, fenilefrina (10^{-5} mol/L)

3.7.5.2.-Estudio de la respuestas vasodilatadora

Los lechos vasculares mesentéricos se perfundieron con una infusión continua de fenilefrina (10^{-5} mol/L). Cuando se consiguió una contracción submáxima y estable, se valoró el efecto de la dieta rica en fructosa sobre:

- La vasorrelajación inducida por un vasodilatador dependiente de endotelio mediante la curva concentración-respuesta a acetilcolina (10^{-12} - 10^{-8} mol).
- La vasorrelajación independiente de endotelio mediante la respuesta a una única dosis de nitroprusiato sódico (10 nmol).

3.7.6.- Reactividad vascular en anillo de aorta

Para estudiar el efecto de la alimentación con fructosa en ratas sobre la reactividad vascular en un vaso de conducción se valoró la respuesta a una serie de vasoconstrictores y vasodilatadores en los anillos aórticos de estos animales.

3.7.6.1.- Estudio de la respuesta vasoconstrictora

Se estudió el efecto de una dieta rica en fructosa sobre la respuesta inducida por un vasoconstrictor cuya acción es independiente de receptor: KCl (80 mmol/L) con objeto de

determinar si dicha dieta afecta a los mecanismos intrínsecos contráctiles de las células del músculo liso vascular

Para estudiar el efecto de una dieta rica en fructosa sobre la respuesta contráctil dependiente de receptor se evaluó la respuesta a:

- Angiotensina II (10^{-7} mol/L)
- Endotelina-1 (10^{-8} mol/L)
- Curva concentración-respuesta al agonista α adrenérgico, fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L).

Para estudiar la participación de los factores endoteliales en la respuesta a fenilefrina, se realizó una curva concentración-respuesta (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) a este vasoconstrictor en anillos sin endotelio.

Con objeto de investigar el papel del NO derivado de endotelio en la respuesta a fenilefrina, los anillos de aorta, se preincubaron durante 15 minutos con el inhibidor de la síntesis de NO, LNAME a una concentración de 10^{-4} mol/L, realizándose a continuación una curva concentración-respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L).

3.7.6.2.- Estudio de la respuesta vasodilatadora

Se valoró la vasorrelajación inducida por un vasodilatador dependiente de endotelio. Los anillos fueron precontraídos con fenilefrina (10^{-6} - 5×10^{-6} mol/L) hasta alcanzar una contracción submáxima (entre el 60-70 % de la respuesta máxima) y estable, realizándose la curva concentración-respuesta a acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L).

Asimismo se evaluó el efecto de una dieta rica en fructosa sobre la vasorrelajación independiente de endotelio. Los anillos fueron precontraídos con fenilefrina (10^{-6} - 5×10^{-6} mol/L) hasta alcanzar una contracción submáxima y estable, adecuada para realizar la curva concentración-respuesta a nitroprusiato sódico (10^{-10} - 10^{-6} mol/L).

3.8.- ESTUDIO DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO EN RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA

Dadas las características presoras, metabólicas, y vasculares que se encuentran alteradas en el modelo experimental se realizó un estudio con fármacos antihipertensores con objeto de determinar si la disminución de la presión arterial ayudaría a mejorar el resto de factores alterados en dicho modelo experimental.

Se utilizaron tres fármacos antihipertensores:

Quinapril (inhibidor de la enzima de conversión de angiotensina)

Diltiazem (bloqueante de los canales de calcio)

Losartan (antagonista de los receptores AT₁ de AII).

Tanto los animales alimentados con fructosa como los de la dieta control fueron tratados con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) o losartan (1 mg/kg/día) durante las cuatro semanas que duró el estudio. Todos los tratamientos se administraron en el agua de bebida.

Los animales se dividieron aleatoriamente en seis grupos (n=7):

- Dieta control + quinapril
- Dieta control + diltiazem
- Dieta control + losartan
- Dieta fructosa + quinapril
- Dieta fructosa + diltiazem
- Dieta fructosa + losartan

En este estudio se valoró la presión arterial, la función renal y los factores metabólicos de las ratas alimentadas con fructosa y tratadas con los distintos fármacos antihipertensivos durante cuatro semanas.

3.8.1.- Presión arterial

Al final de las cuatro semanas de alimentación con uno de los dos tipos de dieta y de la administración en el agua de bebida con cada uno de los distintos tratamientos, se determinó la presión arterial sistólica, medida indirectamente en la cola de los animales.

3.8.2.- Función renal

Se determinaron los siguientes parámetros:

- Volumen de bebida en 24 horas.
- Volumen urinario en 24 horas.
- Concentraciones de sodio y potasio en orina.
- Concentraciones de creatinina en orina y plasma para la determinación del aclaramiento de creatinina.

3.8.3.- Factores metabólicos y test de sobrecarga oral de glucosa

Para estudiar las características metabólicas del efecto del tratamiento con quinapril, diltiazem o losartan sobre el modelo experimental de ratas alimentadas con una dieta control o una dieta rica en fructosa, se determinaron las concentraciones plasmáticas de:

- Glucosa
- Insulina
- Colesterol total
- Triglicéridos

Se realizó un **test de sobrecarga oral de glucosa** en todos los grupos de tratamiento para determinar si los distintos fármacos antihipertensores eran capaces de mejorar la resistencia a la insulina que se observó en los animales alimentados con la dieta de fructosa.

3.8.4.- Factores hormonales vasoactivos

El hecho de que la alimentación con la dieta de fructosa durante cuatro semanas no produjera ninguna modificación en los sistemas vasoactivos que se analizaron en el presente trabajo sugiere que estos no se encuentran implicados en las alteraciones metabólicas así como en el incremento de la presión arterial que se observa en nuestro modelo experimental. Este fue el motivo de que estos parámetros no se estudiaran tras la administración de los tratamientos antihipertensivos de quinapril, diltiazem y losartan.

3.8.5.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos

Se estudió la reactividad vascular en lechos mesentéricos de cada uno de los grupos de tratamiento que recibieron la dieta control o la dieta rica en fructosa.

3.8.5.1.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasoconstrictora

Se estudió el efecto del tratamiento con quinapril, diltiazem o losartan en lechos vasculares mesentéricos de ratas alimentadas con la dieta control o con la dieta rica en fructosa sobre la respuesta inducida por un vasoconstrictor KCl (60 μ mol), cuya acción es independiente de receptor.

Asimismo, se valoró la respuesta contráctil dependiente de receptor inducida por los siguientes agentes vasoconstrictores:

- Angiotensina II (1 nmol)
- Endotelina 1 (10 pmol)
- Perfusión con una infusión continua del agonista α adrenérgico, fenilefrina (10^{-5} mol/L).

3.8.5.2.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasodilatadora

Se valoró el efecto de los tres tratamientos en ratas control y alimentadas con fructosa sobre la vasorrelajación inducida por un vasodilatador dependiente de endotelio. Los lechos vasculares mesentéricos se perfundieron con una infusión continua de fenilefrina (10^{-5} mol/L), cuando se consiguió una contracción submáxima y estable, se realizó la curva concentración-respuesta a acetilcolina (10^{-12} - 10^{-8} mol).

Asimismo se evaluó el efecto de los tres tratamientos sobre la vasorrelajación independiente de endotelio. Los lechos vasculares mesentéricos fueron precontraídos con fenilefrina (10^{-5} mol/L) hasta alcanzar una contracción submáxima y estable, adecuada para evaluar la respuesta a una única dosis de nitroprusiato sódico (10 nmol).

3.8.6.- Reactividad vascular en anillos de aorta

Se estudió la reactividad vascular a diferentes agentes vasoconstrictores y vasodilatadores en anillos aórticos pertenecientes a cada uno de los grupos de tratamiento alimentados con la dieta control o con la dieta rica en fructosa.

3.8.6.1.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasoconstrictora

Se estudió el efecto del tratamiento con quinapril, diltiazem o losartan en ratas alimentadas con la dieta control o con la dieta rica en fructosa sobre la respuesta inducida por un vasoconstrictor cuya acción es independiente de receptor, KCl (80 mmol/L).

Con objeto de estudiar el efecto de los tres tratamientos en ambos grupos de ratas sobre la respuesta contráctil dependiente de receptor se valoró la respuesta inducida por los siguientes agentes vasoconstrictores:

- Angiotensina II (10^{-7} mol/L)
- Endotelina-1 (10^{-8} mol/L)
- Curva concentración-respuesta al agonista α -adrenérgico, fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L)

Para estudiar la participación de los factores endoteliales en la respuesta fenilefrina, se realizó una curva concentración-respuesta (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) a este vasoconstrictor en anillos sin endotelio.

Con objeto de investigar el papel del NO derivado de endotelio en la respuesta a fenilefrina, los anillos se preincubaron durante 15 minutos con el inhibidor de la síntesis de NO, LNAME a una concentración de 10^{-4} mol/L, realizándose a continuación una curva concentración-respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L).

3.8.6.2.- Estudio del tratamiento crónico antihipertensivo sobre la respuesta vasodilatadora

Se valoró el efecto de los tres tratamientos en ratas alimentadas con fructosa sobre la vasorrelajación inducida por un vasodilatador dependiente de endotelio. Los anillos fueron precontraídos con fenilefrina (10^{-6} - 5×10^{-6} mol/L) hasta alcanzar una contracción submáxima (entre el 60-70 % de la respuesta máxima) y estable, realizándose la curva concentración-respuesta a acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L).

Asimismo se evaluó el efecto de los tres tratamientos en estos animales sobre la vasorrelajación independiente de endotelio. Los anillos fueron precontraídos con fenilefrina (10^{-6} - 5×10^{-6} mol/L) hasta alcanzar una contracción submáxima y estable, adecuada para realizar la curva concentración-respuesta a nitroprusiato sódico (10^{-10} - 10^{-6} mol/L).

RESULTADOS

4.1.- CONSECUENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN CON UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA EN RATAS.

En experimentos previos se estudió el efecto de la alimentación con fructosa durante dos, cuatro o diez semanas. Se determinó que las alteraciones observadas en la presión arterial así como en el metabolismo glucídico y lipídico a las dos semanas de alimentación con esta dieta eran mantenidas a lo largo del tiempo, a excepción de la elevada concentración plasmática de glucosa observada en la segunda semana de alimentación con dicha dieta, que se normalizó en la cuarta semana del experimento, y el hiperinsulinismo que apareció a la segunda semana de alimentación, se mantuvo a la cuarta semana pero desapareció tras la décima semana de alimentación con fructosa. Por ello, se estudiaron las características presoras, renales, metabólicas y hormonales vasoactivas de ratas alimentadas con fructosa durante cuatro semanas. Asimismo, se realizó un estudio de reactividad vascular en dos territorios vasculares distintos: un vaso de resistencia como es el lecho vascular mesentérico y un vaso de conducción como es la arteria aorta.

4.1.1.- Presión arterial

Al final del periodo experimental de cuatro semanas, las ratas alimentadas con la dieta rica en fructosa presentaron valores de presión arterial sistólica significativamente mayores ($p < 0.05$) que los animales control (Figura 12).

4.1.2.- Función renal

El incremento de la presión arterial observado en las ratas alimentadas con fructosa no se asoció a cambios del volumen urinario ni de la excreción urinaria de sodio. La elevada ingesta de fructosa tampoco produjo modificaciones significativas en el aclaramiento de creatinina a lo largo del estudio. Sin embargo, la excreción urinaria de potasio fue inferior en las ratas alimentadas con fructosa (Tabla 1).

Estos datos sugieren que una dieta con elevado contenido en fructosa no da lugar a un deterioro de la función renal.

No se observaron diferencias ni en el peso de los animales ni en la ingesta de comida a lo largo del estudio entre el grupo control y el experimental.

4.1.3.- Factores metabólicos

La dieta con fructosa elevó significativamente los niveles plasmáticos de insulina y triglicéridos, pero no afectó a las concentraciones plasmáticas de colesterol total y glucosa (Figura 13).

4.1.4.- Test de sobrecarga oral de glucosa

Las concentraciones plasmáticas de glucosa presentaron unos valores incrementados, aunque no significativos, a los 15, 30, 60 y 90 minutos después de recibir una sobrecarga oral de glucosa en los animales que se alimentaron con la dieta control. Sin embargo, los animales alimentados con fructosa presentaron un incremento significativo en la concentración de glucosa plasmática en respuesta al test de sobrecarga oral de glucosa. El pico máximo de glucosa se observó a los 15 minutos después de la administración oral de glucosa en ambos grupos de animales (Figura 14, panel superior).

La concentración plasmática de insulina en respuesta a una sobrecarga oral de glucosa presentó un incremento, aunque no significativo, a los 15 minutos en los animales alimentados con la dieta control. En los animales alimentados con la dieta de fructosa, las concentraciones plasmáticas de insulina presentaron una respuesta incrementada basalmente, que se mantuvo a los 15 y 30 minutos después de recibir la sobrecarga oral de glucosa. Observándose un pico máximo de insulina a los 15 minutos (Figura 14, panel inferior).

4.1.5.- Factores hormonales vasoactivos

No se observaron modificaciones significativas en los niveles de actividad de renina plasmática ni en la concentración de aldosterona plasmática tras las cuatro semanas de alimentación con fructosa en comparación con el grupo de animales que recibió la dieta control (Tabla 2).

La concentración de endotelina plasmática tampoco se modificó tras la alimentación de los animales con una dieta rica en fructosa durante cuatro semanas (Tabla 2).

Los niveles plasmáticos de noradrenalina, adrenalina y dopamina tampoco presentaron variaciones significativas tras la alimentación con fructosa durante cuatro semanas (Tabla 3).

La alimentación con fructosa durante cuatro semanas no modificó la excreción urinaria de PGE₂, 6-ceto-PGF_{1α} (el metabolito estable de PGI₂) ó TXB₂ (el metabolito estable de TXA₂) (Tabla 4).

No se observaron modificaciones en la excreción urinaria de nitritos de los animales alimentados con la dieta de fructosa respecto al grupo control (Tabla 4).

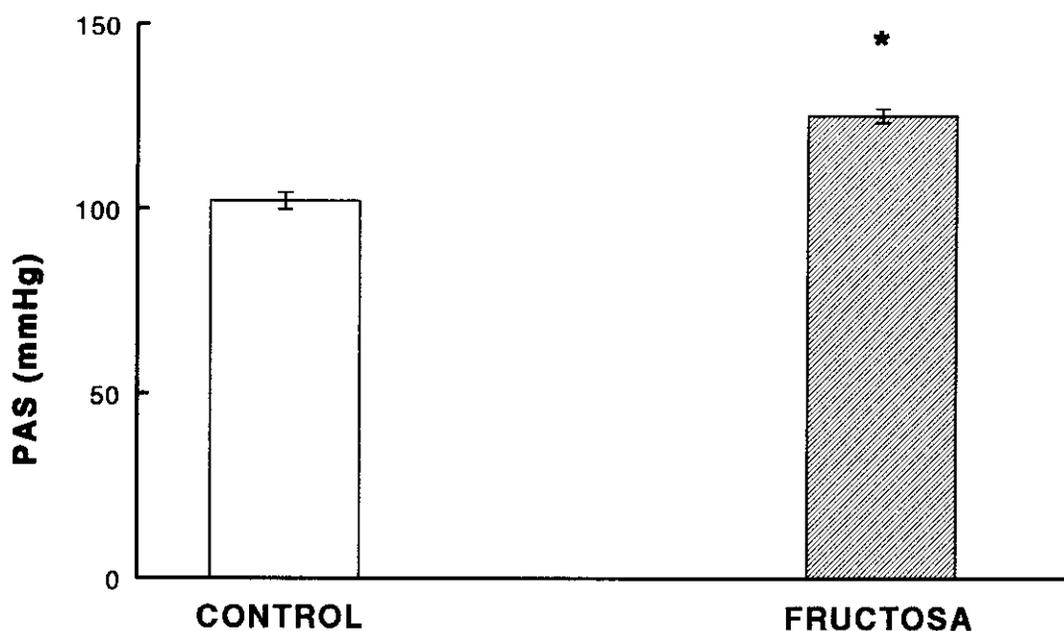


Figura 12.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre la presión arterial sistólica (PAS). Los valores se expresan como la media \pm eem.

* $p < 0.05$ respecto al grupo control.

	VU (ml/24h)	VB (ml/24h)	UnaV (mmol/24h)	UKV (mmol/24h)	C Cre (ml/min)
CONTROL	28.2 \pm 2.5	39 \pm 3	9.7 \pm 0.5	3.6 \pm 0.2	1.17 \pm 0.1
FRUCTOSA	30.1 \pm 1.9	44 \pm 2	11.4 \pm 0.4	1.8 \pm 0.1*	0.93 \pm 0.1

Tabla 1.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre el volumen urinario (VU), volumen de bebida (VB), excreción urinaria de sodio (UnaV), excreción urinaria de potasio (UKV) y aclaramiento de creatinina (C Cre). Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control.

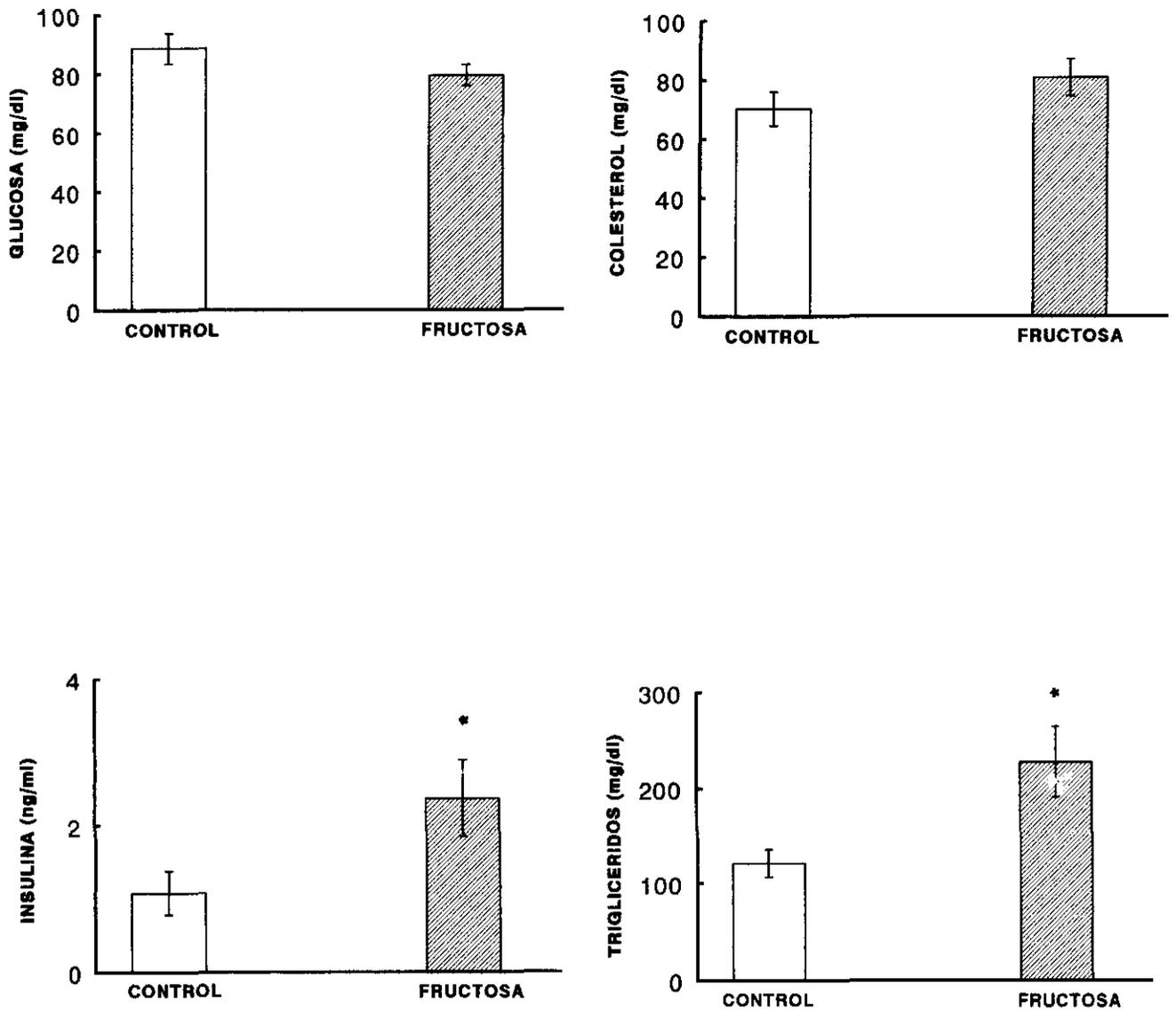


Figura 13.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre la concentración plasmática de glucosa, colesterol, insulina y triglicéridos. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control.

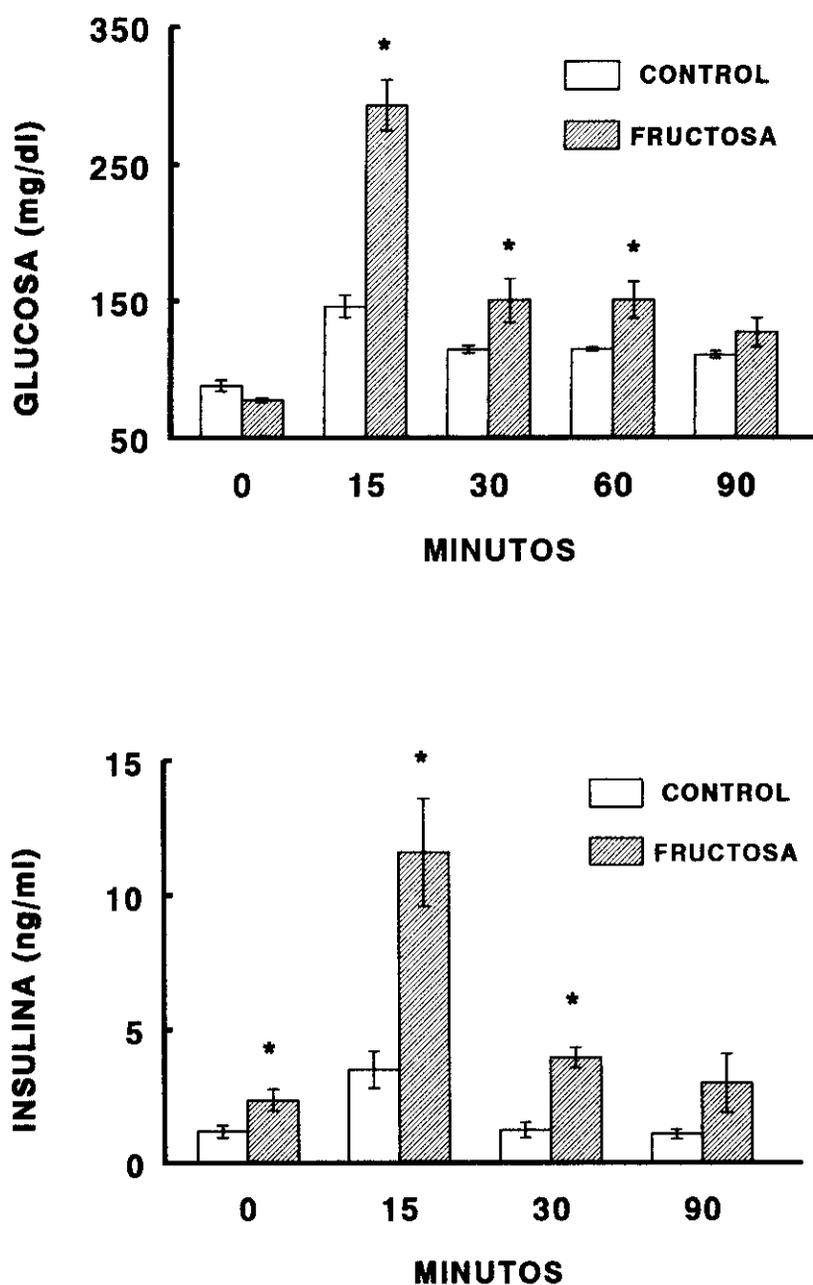


Figura 14.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre la concentración plasmática de glucosa (figura superior) y de insulina (figura inferior) en respuesta a una sobrecarga oral de glucosa. Los valores expresan como la media \pm eem.

* $p < 0.05$ respecto del grupo control.

	ARP (ng AI/ml/h)	AP (pg/ml)	ET-1 (fmol/ml)
CONTROL	6.2 ± 0.6	494.3 ± 147.5	33.2 ± 6.5
FRUCTOSA	5.5 ± 0.9	558.9 ± 94.8	37.9 ± 6.6

Tabla 2.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre la actividad de renina plasmática (ARP) y las concentraciones plasmáticas de aldosterona (AP) y endotelina-1 (ET-1). Los valores se expresan como la media ± eem.

	NA (pg/ml)	A (pg/ml)	DA (pg/ml)
CONTROL	758.4 ± 123.8	203.6 ± 38.4	139.1 ± 28.2
FRUCTOSA	913.1 ± 114.3	217.1 ± 17.0	152.6 ± 27.5

Tabla 3.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre la concentración plasmática de noradrenalina (NA), adrenalina (A) y dopamina (DA). Los valores se expresan como la media ± eem.

	UPGE ₂ (ng/24h)	U6-K-PGF _{1α} (ng/24h)	UTXB ₂ (ng/24h)	NITRITOS (nmol/24h)
CONTROL	34.0 ± 12.0	5.8 ± 0.6	12.3 ± 1.6	76.6 ± 16.5
FRUCTOSA	36.0 ± 14.0	6.1 ± 0.7	13.9 ± 1.9	60.7 ± 12.4

Tabla 4.- Efecto de la alimentación con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas sobre excreción urinaria de prostaglandina E₂ (UPGE₂), 6-ceto-prostaglandina F_{1α} (U6KPGF_{1α}), tromboxano B₂ (UTXB₂) y de nitritos. Los valores se expresan como la media ± eem.

4.1.6.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos

La presión de perfusión basal fue similar en los lechos vasculares mesentéricos tanto de las ratas alimentadas con la dieta control como con la dieta con alto contenido en fructosa (control: 10 ± 0.89 mmHg; fructosa 10.25 ± 0.88 mmHg). Lo que sugiere que dicha alimentación no afecta al tono basal de este territorio vascular.

4.1.6.1- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta vasoconstrictora

El incremento en la presión de perfusión inducida por KCl ($60 \mu\text{mol}$) no fue modificado significativamente en lechos vasculares mesentéricos de ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa respecto de los animales control (Figura 15, panel superior izquierdo). Por tanto, dicha dieta no afecta al mecanismo intrínseco de contracción del músculo liso vascular.

La respuesta al vasoconstrictor AII (1 nmol) en lechos vasculares mesentéricos de ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas fue similar a la respuesta observada en el grupo de animales control (Figura 15; panel superior derecho).

La alimentación con fructosa en ratas no modificó la vasoconstricción inducida por una infusión continua de fenilefrina (10^{-5} mol/L) en lechos vasculares mesentéricos (Figura 15, panel inferior izquierdo).

La respuesta a ET-1 (10 pmol) en lechos vasculares mesentéricos fue similar tanto en el grupo control como en el grupo de animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 15, panel derecho).

4.1.6.2- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta vasodilatadora

La alimentación con fructosa en ratas no produjo variaciones en la curva de relajación dependiente de la dosis inducida por el vasodilatador dependiente de endotelio acetilcolina

(10^{-12} - 10^{-8} mol) en lechos vasculares mesentéricos (Figura 16).

La respuesta a una dosis alta del vasodilatador endotelio independiente nitroprusiato sódico (10 nmol) en lechos vasculares mesentéricos, no se modificó significativamente por la alimentación rica en fructosa (Figura 17).

Estos resultados sugieren que la reactividad vascular de un territorio de resistencia como el lecho vascular mesentérico no se ve alterada por una ingesta alta en fructosa.

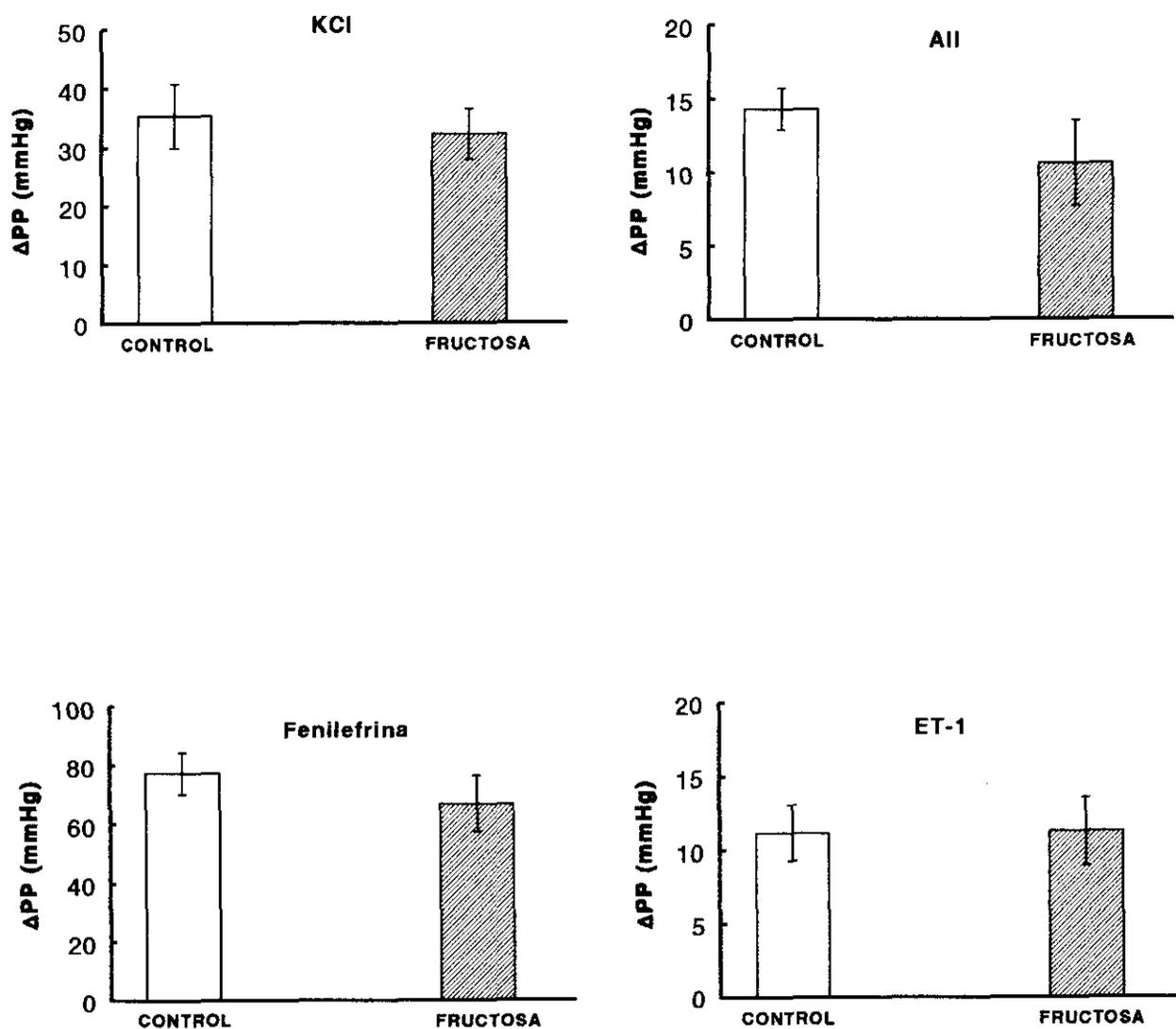


Figura 15.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a cloruro sódico (KCl) ($60 \mu\text{mol}$), a angiotensina II (AII) (1 nmol), a fenilefrina (10^{-5} mol/l) y a endotelina-1 (ET-1) (10 pmol) en lechos vasculares mesentéricos. Los valores se expresan como la media \pm eem.

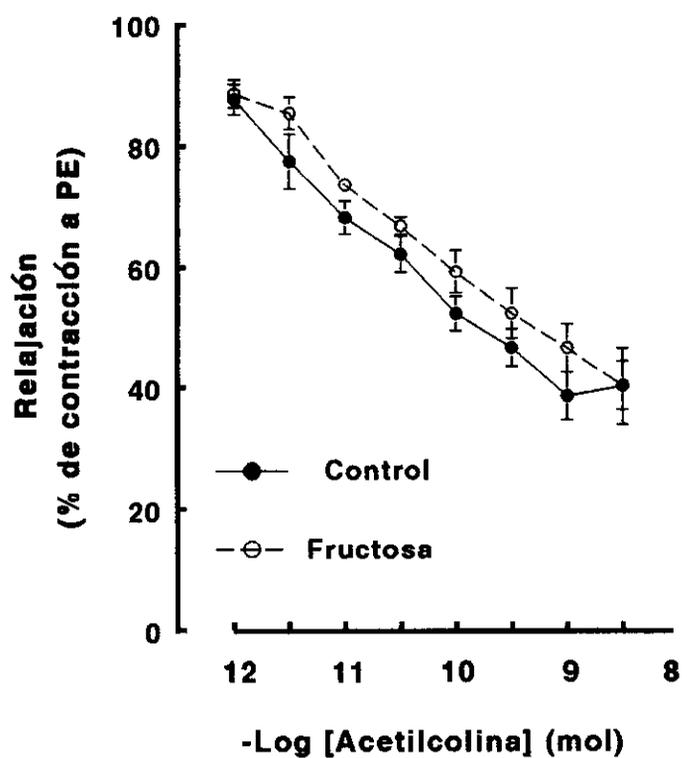


Figura 16.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a acetilcolina (10^{-12} - 10^{-8} mol) en lechos vasculares mesentéricos. Los valores se expresan como la media \pm eem.

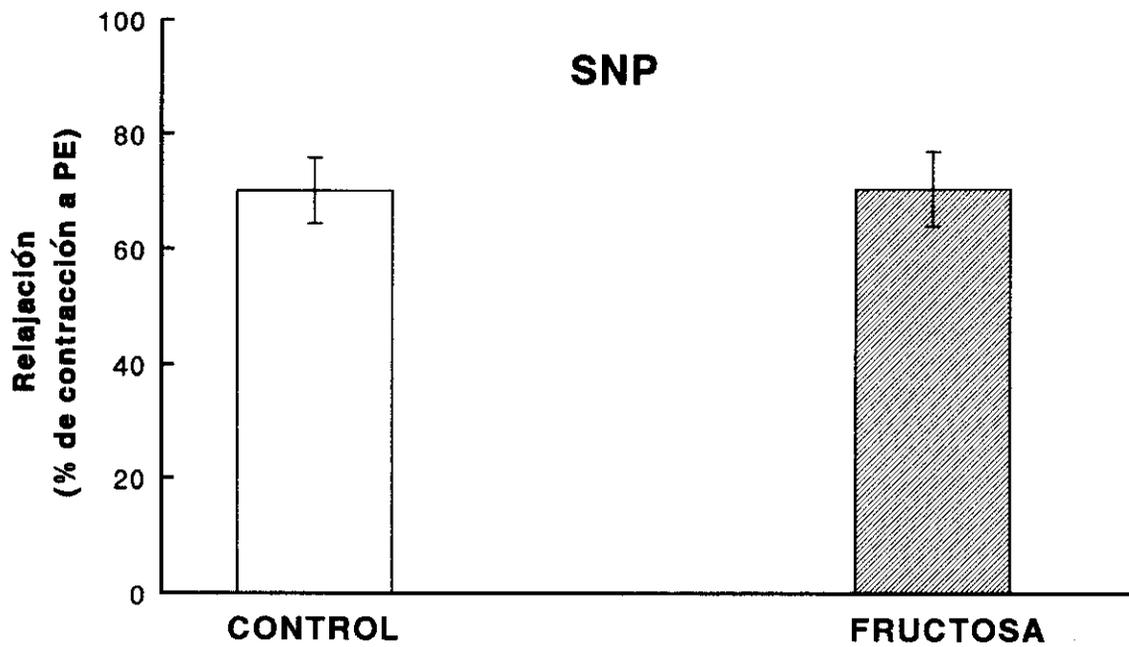


Figura 17.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a nitroprusiato de sodio (SNP) (10 nmol) en lechos vasculares mesentéricos. Los valores se expresan como la media \pm eem.

4.1.7.- Reactividad vascular en anillos de aorta

4.1.7.1.- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta a distintos agentes vasoconstrictores

La alimentación con fructosa en ratas durante cuatro semanas no modificó la respuesta constrictora a KCl (80 mmol/L) en anillos aórticos comparada con la obtenida en el grupo control (Figura 18, panel superior). Indicando que este tipo de dieta no parece afectar a los mecanismos implicados en el proceso de contracción que tiene lugar en las células del músculo liso vascular.

La respuesta constrictora a angiotensina II (10^{-7} mol/L) aumentó significativamente en el grupo de animales alimentados con fructosa respecto del grupo control (figura 18, panel inferior). Esto sugiere que una dieta rica en fructosa produce una mayor sensibilidad a este factor vasoconstrictor endógeno en este tipo de territorio vascular.

La curva concentración-respuesta inducida por fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) (Figura 19) en anillos aórticos fue similar tanto en los animales que fueron alimentados con la dieta de fructosa como con la dieta control. Lo que sugiere que dicha alimentación no da lugar a una mayor sensibilidad a este agonista α -1 adrenérgico.

La respuesta al vasoconstrictor endotelina (10^{-8} mol/L) fue semejante tanto en el grupo control como en el grupo de animales alimentados con fructosa (Figura 20).

La presencia del inhibidor de la síntesis de NO, LNAME (10^{-4} mol/L) en el medio de incubación de los anillos aórticos con endotelio, incrementó la respuesta a fenilefrina tanto en los animales alimentados con la dieta control (Figura 21, panel superior izquierdo) como con la dieta de fructosa (figura 21, panel inferior izquierdo). Esto sugeriría que existe una mayor sensibilidad a la fenilefrina cuando se encuentra inhibido el NO (en presencia de LNAME) y

pone de manifiesto el papel modulador de este factor endotelial en la respuesta constrictora inducida por fenilefrina en anillos aórticos de ratas Sprague-Dawley.

En anillos aórticos sin endotelio se observa un incremento en la respuesta constrictora a fenilefrina tanto en el grupo control (Figura 21, panel superior derecho) como en el grupo de animales alimentados con fructosa (figura 21, panel inferior derecho).

El incremento observado en la respuesta a fenilefrina tanto en ausencia de endotelio como en presencia de L-NAME, fue similar en ambos grupos de animales, lo que implica una participación de los factores vasoactivos dependientes de endotelio, entre ellos el NO, en la respuesta a fenilefrina en anillos aórticos de ratas Sprague-Dawley independientemente de la dieta administrada a los animales.

4.1.7.2- Efecto de la alimentación con fructosa sobre la respuesta vasodilatadora

La respuesta vasodilatadora a acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) fue similar en anillos tanto de animales alimentados con fructosa como en los animales control tal como muestra la figura 22 del panel superior. Sugiriendo que tras cuatro semanas de alimentación con fructosa no están afectados los mecanismos de vasodilatación dependientes de endotelio.

La alimentación con una dieta rica en fructosa no presentó modificaciones significativas en la respuesta vasodilatadora a nitroprusiato sódico (10^{-10} - 10^{-10} mol/L) respecto del grupo control (figura 22, panel inferior), esto indica que la alimentación con fructosa no afecta a los mecanismos del músculo liso vascular en la vasodilatación independiente de endotelio.

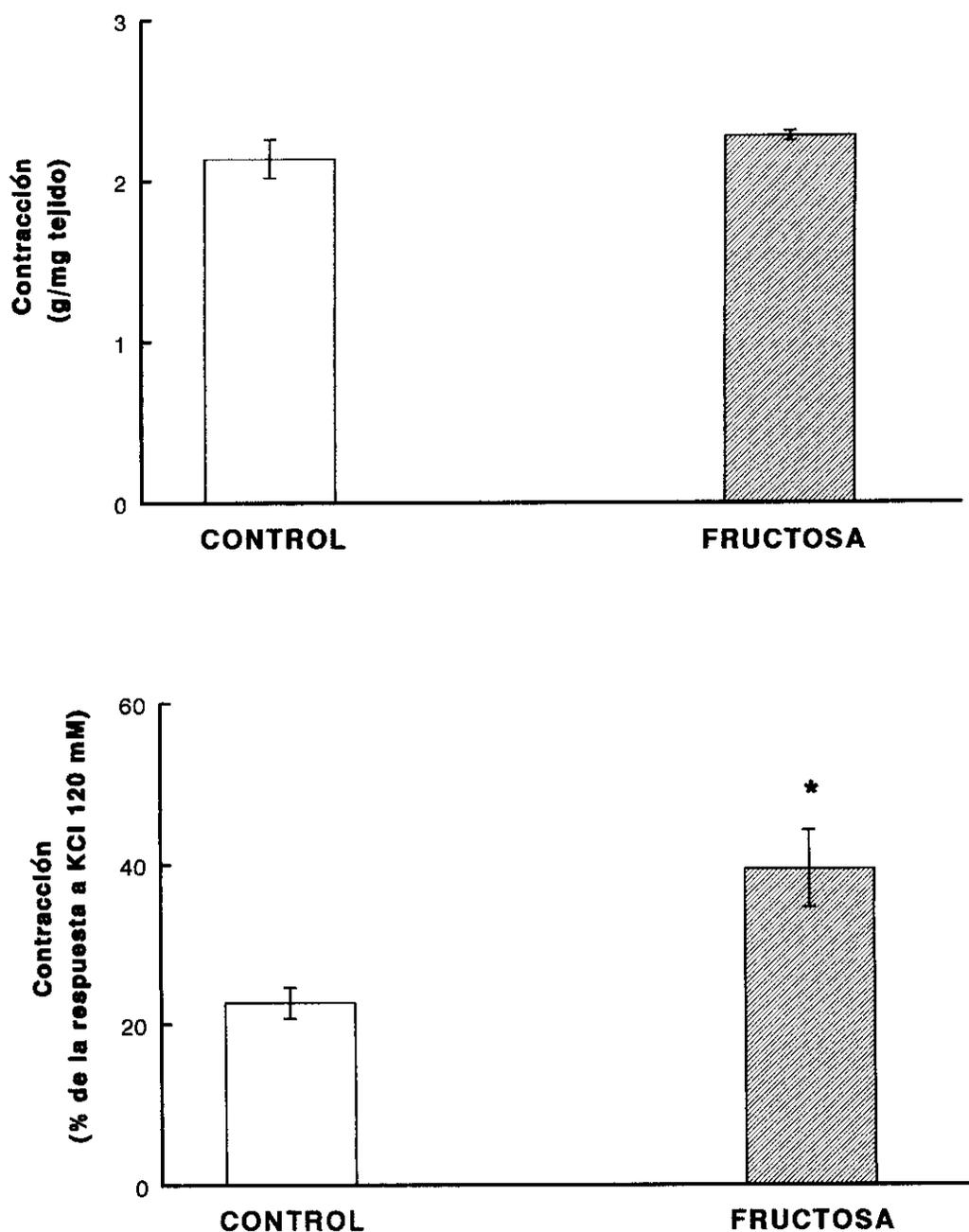


Figura 18.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a KCl (80 mmol/L) (panel superior) y angiotensina II (10^{-7} M) (panel inferior) en anillos de aorta. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control.

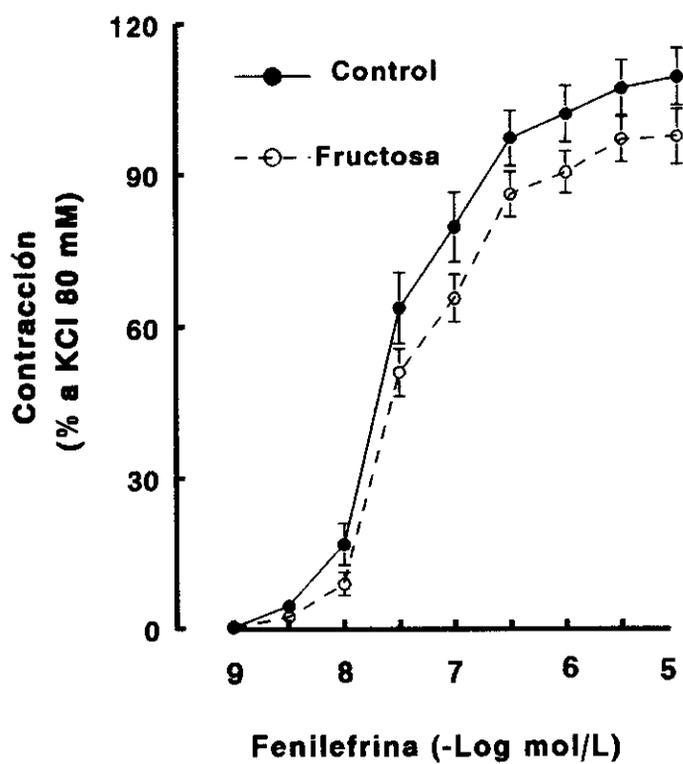


Figura 19.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta. Los valores se expresan como la media \pm eem.

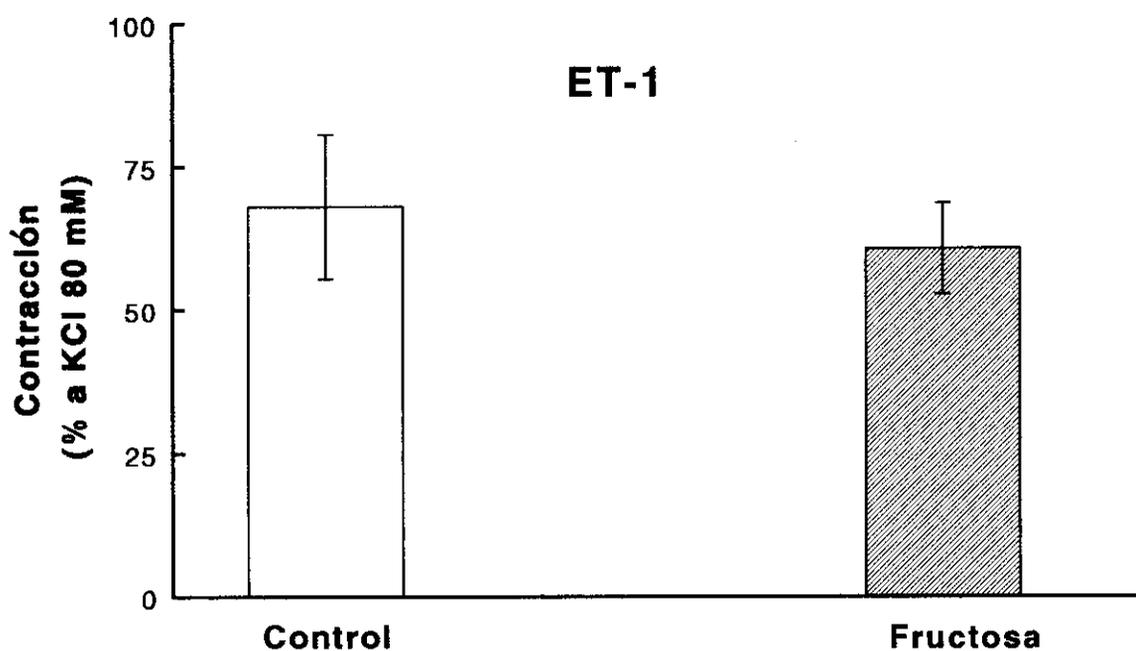


Figura 20.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a endotelina (10^{-8} mol/L) en anillos de aorta. Los valores se expresan como la media \pm eem.

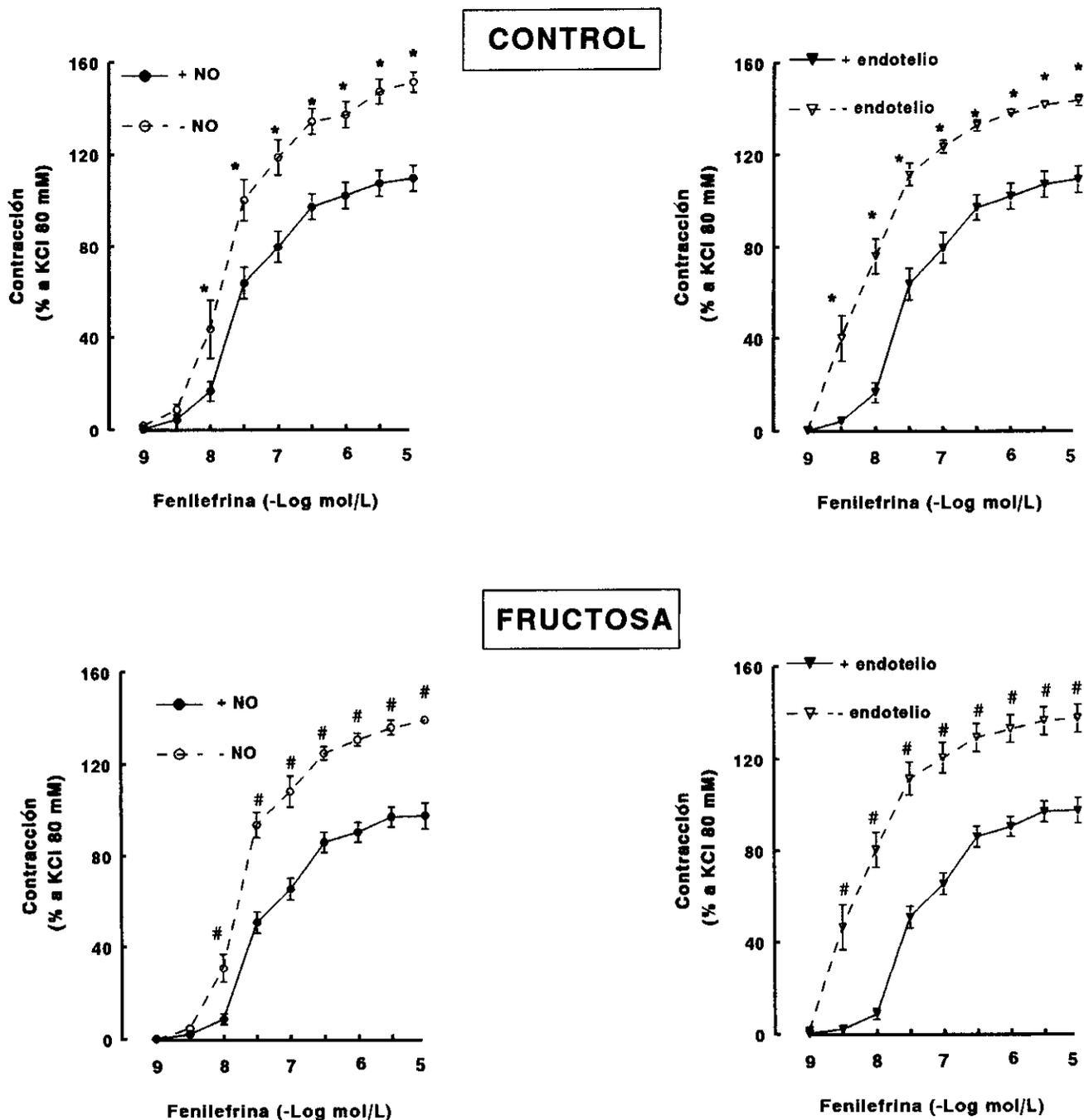


Figura 21.- Efecto del inhibidor de la síntesis de NO, L-NAME (-NO) o de la ausencia de endotelio (- endotelio) sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta de animales control (panel superior) o animales alimentados con la dieta de fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores expresan la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa.

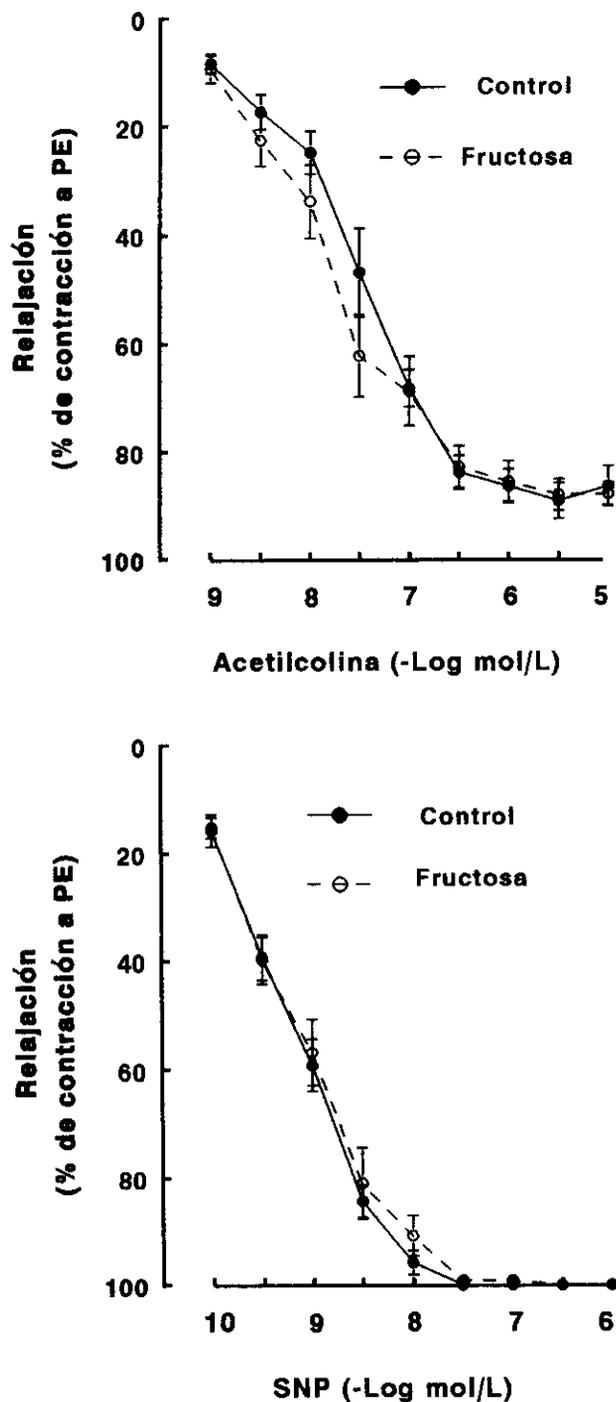


Figura 22.- Efecto de la alimentación con fructosa durante 4 semanas sobre la respuesta a acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) (figura superior) y a sodio nitroprusiato (10^{-10} - 10^{-6} mol/L) en anillos de aorta (figura inferior). Los valores expresan la media \pm eem.

4.2.- EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO EN RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA RICA EN FRUCTOSA

Tras estudiar las alteraciones presoras, metabólicas, hormonales y vasculares en la rata alimentada con fructosa durante cuatro semanas, se procedió al estudio de estos parámetros tras la administración de los fármacos antihipertensivos quinapril (un inhibidor de la enzima de conversión de angiotensina), diltiazem (un bloqueante de los canales de calcio) y losartan (un antagonista de los receptores AT₁ de AII) sobre estos animales.

4.2.1.- Presión arterial

Los tres tipos de tratamientos antihipertensores fueron capaces de prevenir el incremento de presión arterial desarrollado en las ratas alimentadas con fructosa (Figura 23, panel inferior), lo que indica que quinapril, diltiazem y losartan ejercerían efectos beneficiosos mediante sus acciones dilatadoras reduciendo las resistencias vasculares en el tejido muscular esquelético. Como se observa en el panel superior de la figura 23 la presión arterial sistólica de los animales alimentados con la dieta control no sufrió modificaciones significativas con ninguno de los tratamientos.

4.2.2.- Función renal

La tabla 5 muestra como el tratamiento con quinapril produjo incrementos significativos ($p < 0.05$) tanto en el volumen urinario como en la ingesta de agua en los animales alimentados con la dieta control. Sin embargo diltiazem o losartan no modificaron ninguno de estos parámetros.

La tabla 6 muestra como el tratamiento con diltiazem produjo una disminución significativa ($p < 0.05$) tanto en el volumen urinario como en la ingesta de agua en los animales alimentados con la dieta de fructosa. Sin embargo quinapril o losartan no modificaron estos parámetros.

Ninguno de los tres tratamientos modificó la excreción urinaria de sodio o potasio ni el aclaramiento de creatinina tanto en el grupo control como en el grupo de animales alimentados con fructosa (Tablas 5 y 6).

No se observaron diferencias tanto en el peso de los animales como en la ingesta de comida entre el grupo control y el grupo de animales alimentados con fructosa con ninguno de los tres tipos de tratamientos a lo largo del estudio.

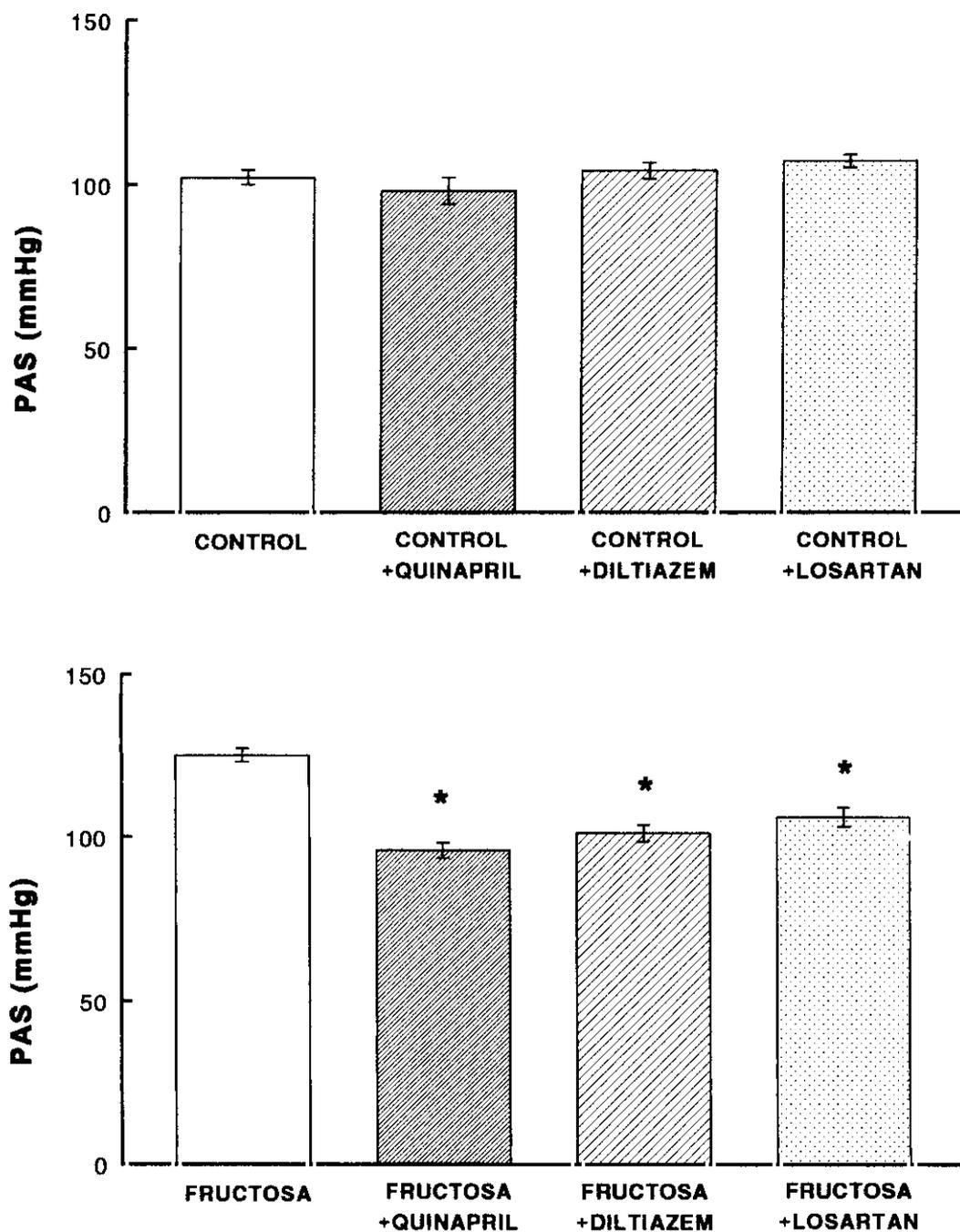


Figura 23.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la presión arterial sistólica (PAS) en ratas control (figura superior) y en ratas alimentadas con fructosa (figura inferior) durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

	VU (ml/24h)	VB (ml/24h)	UNaV (mmol/24h)	UkV (mmol/24h)	C Cre (ml/min)
CONTROL	28.2 ± 2.5	39 ± 3	9.7 ± 0.5	3.6 ± 0.2	1.17 ± 0.1
+QUINAPRIL	42.7 ± 3.3*	55 ± 3*	11.0 ± 0.8	3.6 ± 0.3	0.92 ± 0.1
+DILTIAZEM	23.7 ± 1.4	36 ± 2	10.6 ± 0.5	3.9 ± 0.2	1.31 ± 0.12
+LOSARTAN	29.1 ± 1.3	38. ± 2	11.2 ± 0.4	4.1 ± 0.2	1.23 ± 0.1

Tabla 5.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) o losartan (1 mg/kg/día) sobre el volumen urinario (VU), el volumen de bebida (VB), la natriuresis (UnaV), la kaliuresis (UKV) y el aclaramiento de creatinina (C Cre) en ratas control. * p<0.05 respecto del grupo control sin tratamiento.

	VU (ml/24h)	VB (ml/24h)	UNaV (mmol/24h)	UkV (mmol/24h)	C Cre (ml/min)
FRUCTOSA	30.1 ± 1.9	44 ± 2	11.4 ± 0.4	1.8 ± 0.1	0.93 ± 0.10
+QUINAPRIL	30.1 ± 1.9	41 ± 2	11.8 ± 0.7	2.1 ± 0.1	1.10 ± 0.15
+DILTIAZEM	23.2 ± 1.5*	30 ± 2 *	11.3 ± 0.5	2.0 ± 0.1	1.10 ± 0.14
+LOSARTAN	31.1 ± 2.0	41 ± 1.9	11.7 ± 0.5	1.99 ± 0.08	1.38 ± 0.13

Tabla 6.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) o losartan (1 mg/kg/día) sobre el volumen urinario (VU), el volumen de bebida (VB), la natriuresis (UnaV), la kaliuresis (UKV) y el aclaramiento de creatinina (C Cre) en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas. * p<0.05 respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

4.2.3- Factores metabólicos

Los tratamientos con quinapril, diltiazem o losartan no modificaron los niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos, glucosa o insulina en los animales alimentados con la dieta control (Figura 24).

Tal como se mencionó en la figura 13, los niveles plasmáticos de triglicéridos e insulina aparecen aumentados en las ratas alimentadas con fructosa respecto al grupo control. La figura 25 muestra como los tratamientos de quinapril, diltiazem y losartan no corrigieron los niveles de triglicéridos aumentados en los animales alimentados con fructosa. Sin embargo los tres tratamientos fueron capaces de prevenir la hiperinsulinemia inducida por fructosa. Los niveles de colesterol y glucosa, que no presentaron variaciones significativas entre el grupo control y el de ratas alimentadas con fructosa, tampoco fueron modificados por los tratamientos de quinapril, diltiazem o losartan en los animales alimentados con fructosa (Figura 25).

4.2.4.- Test de sobrecarga oral de glucosa

Las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina, basalmente y en respuesta a una sobrecarga oral de glucosa en las ratas que recibieron los tratamientos de quinapril, diltiazem o losartan y que fueron alimentadas con la dieta control aparecen representadas en la figura 26, panel superior. Asimismo la figura 26, en el panel inferior representa este mismo parámetro pero en los animales que recibieron la dieta rica en fructosa. El pico máximo de glucosa e insulina se observó a los 15 minutos después de la administración oral de glucosa en todos los grupos. Los niveles plasmáticos de glucosa o insulina de las ratas control (Figura 26, panel superior) no sufrieron modificaciones significativas con ninguno de los tratamientos y fueron comparables a los valores observados en las ratas alimentadas con fructosa y tratadas con quinapril, diltiazem o losartan.

Los tres tratamientos fueron capaces de prevenir la respuesta exagerada de glucemia e insulinemia a los 15,30 y 60 minutos después de la sobrecarga oral de glucosa en las ratas con

fructosa (Figura 26, panel inferior). Esto sugiere que tanto quinapril, diltiazem o losartan, a través de sus acciones vasodilatadoras, facilitarían la captación normal de glucosa por parte del músculo esquelético.

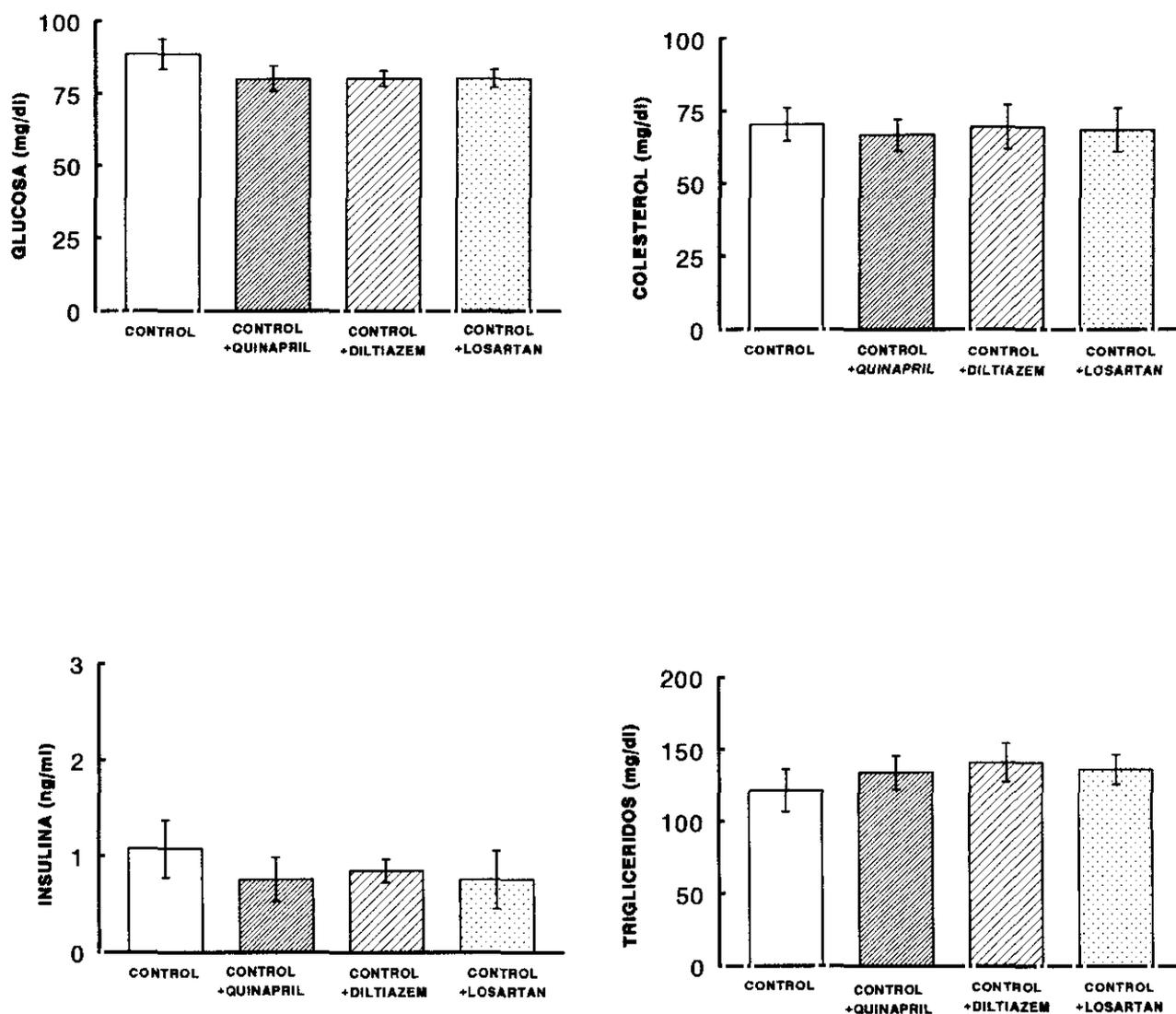


Figura 24.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, colesterol y triglicéridos en ratas alimentadas con la dieta control durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem.

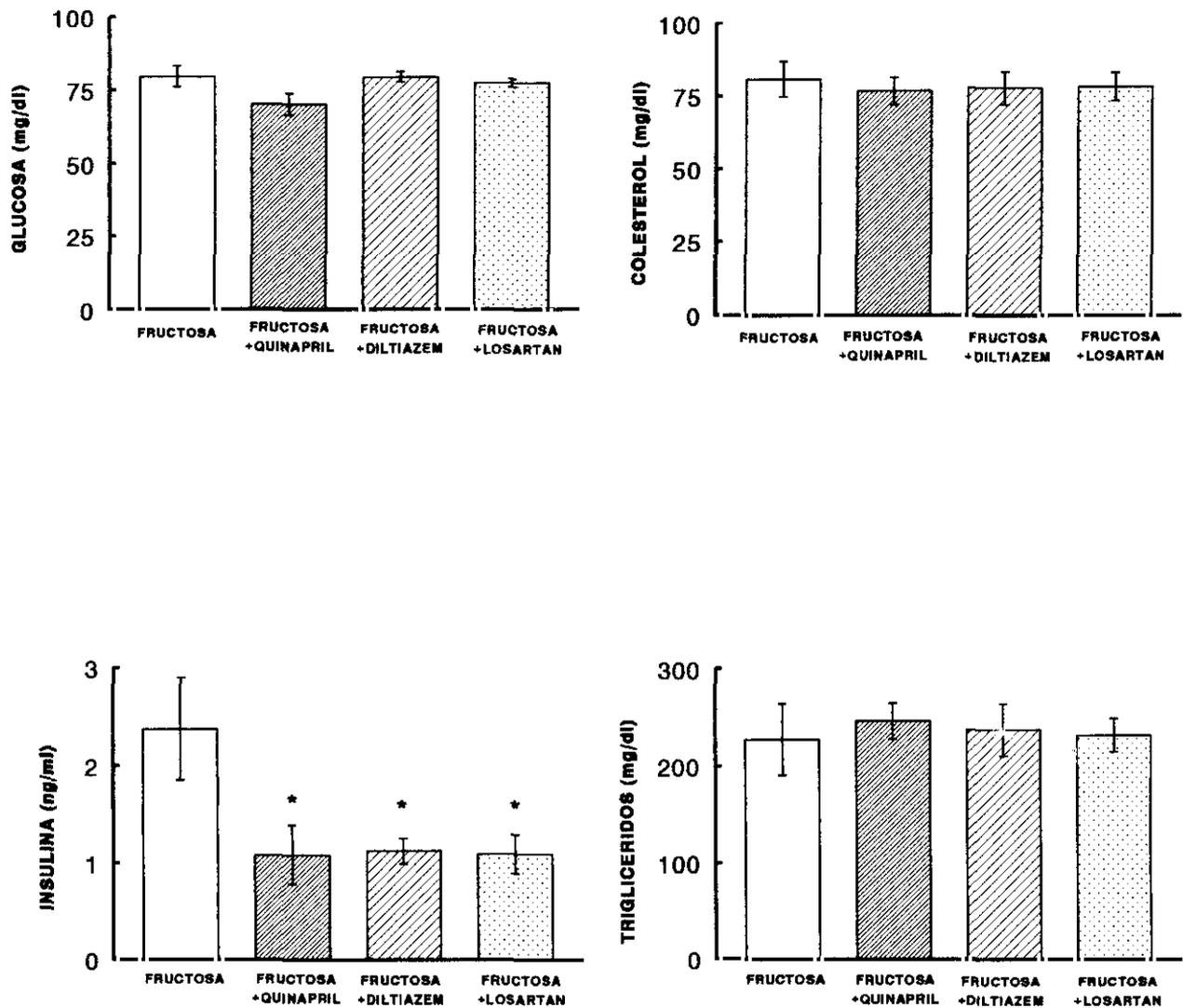


Figura 25.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, colesterol y triglicéridos en ratas alimentadas con la dieta de fructosa durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

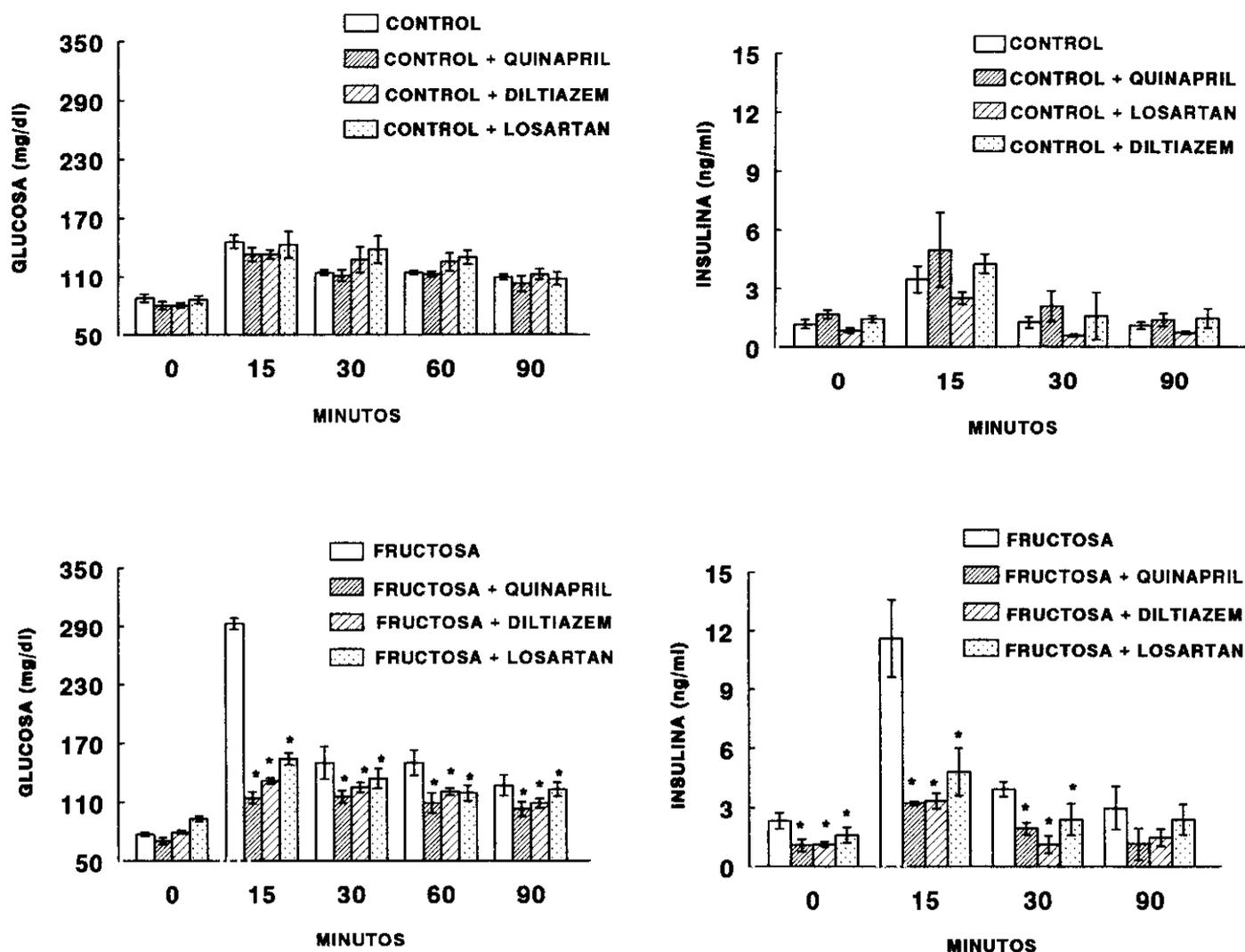


Figura 26.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) o losartan sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa y de insulina en respuesta a una sobrecarga oral de glucosa en animales control (panel superior) y alimentados con una dieta rica en fructosa (panel inferior) durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

4.2.5.- Reactividad vascular en lechos mesentéricos

Los tratamientos de quinapril, diltiazem o losartan no modificaron la presión de perfusión basal de los lechos vasculares mesentéricos de los animales que recibieron la dieta control o de fructosa (control: 10 ± 0.89 mmHg; control+quinapril: 10.5 ± 0.72 mmHg; control+diltiazem: 10.8 ± 0.58 mmHg; control+losartan: 9.2 ± 0.58 mmHg) (fructosa: 10.25 ± 0.88 mmHg; fructosa+quinapril: 10 ± 0.93 mmHg; fructosa+diltiazem: 11 ± 0.66 ; fructosa+losartan: 9.1 ± 0.59 mmHg).

4.2.5.1- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasoconstrictora en ratas alimentadas con fructosa

La respuesta constrictora a KCl ($60 \mu\text{mol}$) en lechos vasculares mesentéricos, no sufrió modificaciones significativas con ninguno de los tres tratamientos administrados tanto en el grupo de animales control (Figura 27, panel superior) como en el grupo de animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 27, panel inferior).

El tratamiento con quinapril no modificó la respuesta al vasoconstrictor angiotensina II (1 nmol) en lechos vasculares mesentéricos de animales control (Figura 28, panel superior) así como en animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 28, panel inferior). El tratamiento de diltiazem tan sólo disminuyó la respuesta a angiotensina II en los anillos aorticos del grupo de animales control (Figura 28, panel superior). Sin embargo el tratamiento con losartan eliminó totalmente la respuesta a angiotensina II en ambos grupos de animales.

La vasoconstricción inducida por una infusión continua de fenilefrina (10^{-5} mol/L) en lechos vasculares mesentéricos fue similar tanto en el grupo control (Figura 29, panel superior) como en el grupo de animales alimentados con fructosa (Figura 29, panel inferior) que recibieron los tratamientos de quinapril o diltiazem. Sin embargo, la respuesta a fenilefrina se redujo significativamente ($p < 0.05$) por el tratamiento con losartan tanto en el grupo de

animales control como en el grupo de animales alimentados con fructosa. Esto sugiere que el efecto vasoconstrictor de la fenilefrina estaría mediada, parcialmente, por A II.

Los tratamientos de quinapril, diltiazem no modificaron la respuesta constrictora inducida por endotelina-1 (10 pmol) en lechos vasculares mesentéricos de animales control (Figura 30, panel superior) y animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 30, panel inferior). Sin embargo, el tratamiento de losartan disminuyó la respuesta a endotelina-1 en lechos vasculares mesentéricos tanto de los animales alimentados con la dieta control como con la dieta de fructosa (Figura 30, panel superior e inferior).

4.2.5.2- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre las respuestas vasodilatadoras en ratas alimentadas con fructosa

La respuesta a acetilcolina (10^{-12} - 10^{-8} mol) fue comparable en los tres grupos de tratamiento tanto en animales control (Figura 31, panel superior) como en animales alimentados con fructosa (Figura 31, panel inferior).

No se observan diferencias significativas en la vasorrelajación inducida por nitroprusiato sódico (10 nmol) con ninguno de los tres tratamientos tanto en el grupo de animales control (Figura 32, panel superior) como en los animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 31, panel inferior).

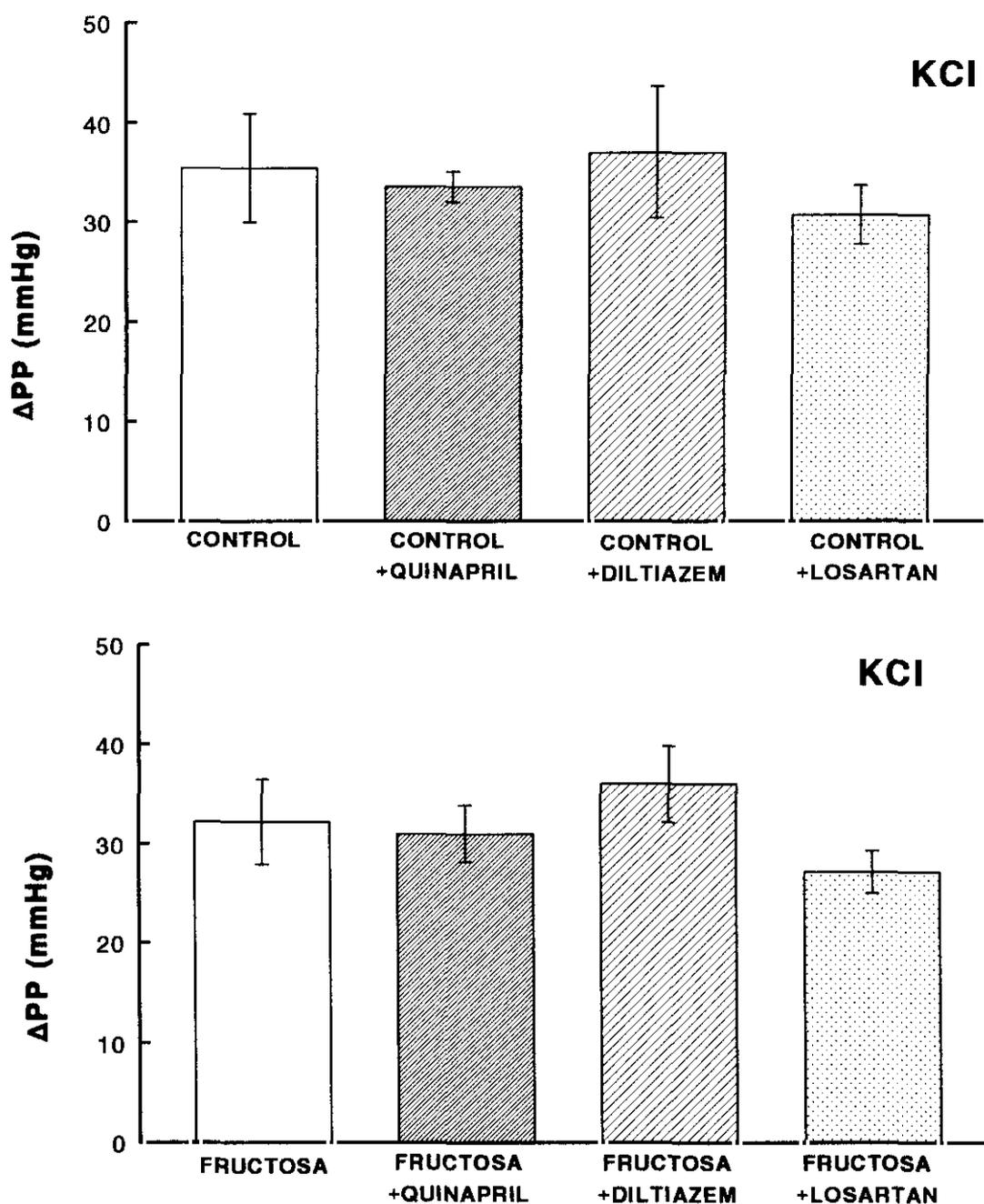


Figura 27.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a KCl (60 mmol) en lechos vasculares mesentéricos de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem

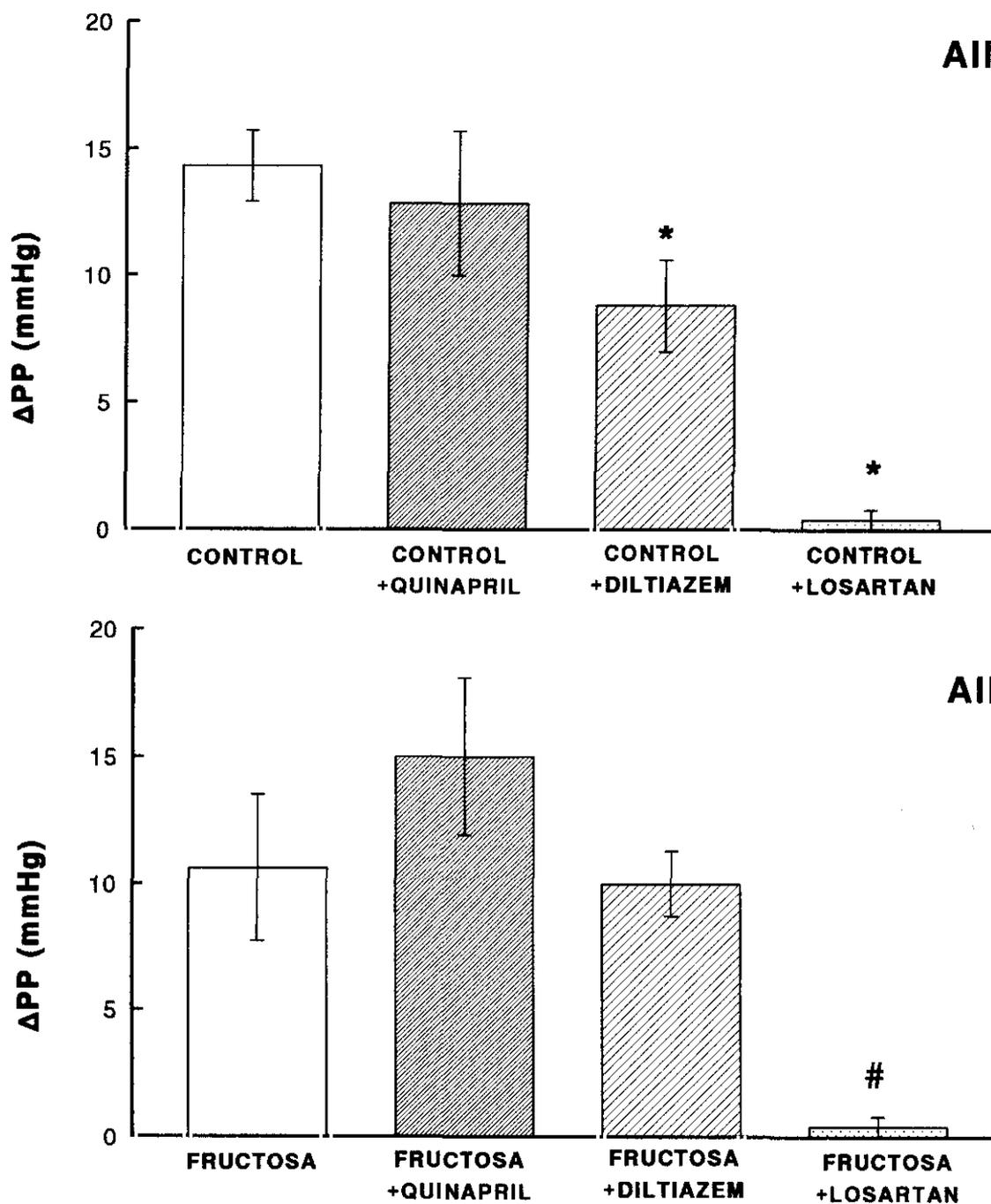


Figura 28.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a AII (1 mmol) en lechos vasculares mesentéricos de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem.

* $p < 0.05$ respecto del grupo control sin tratamiento. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

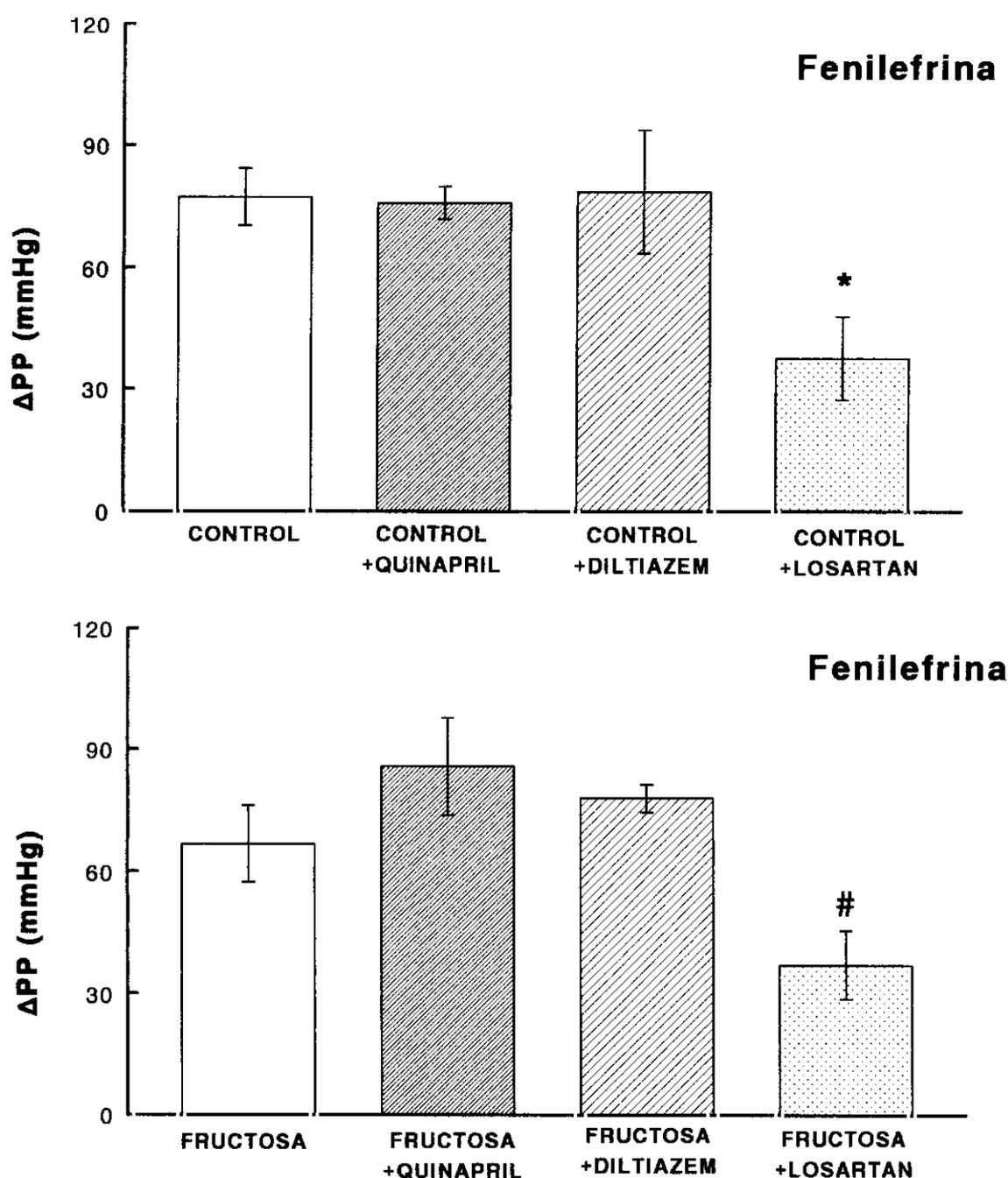


Figura 29.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-5} mol/L) en lechos vasculares mesentéricos de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control sin tratamiento. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

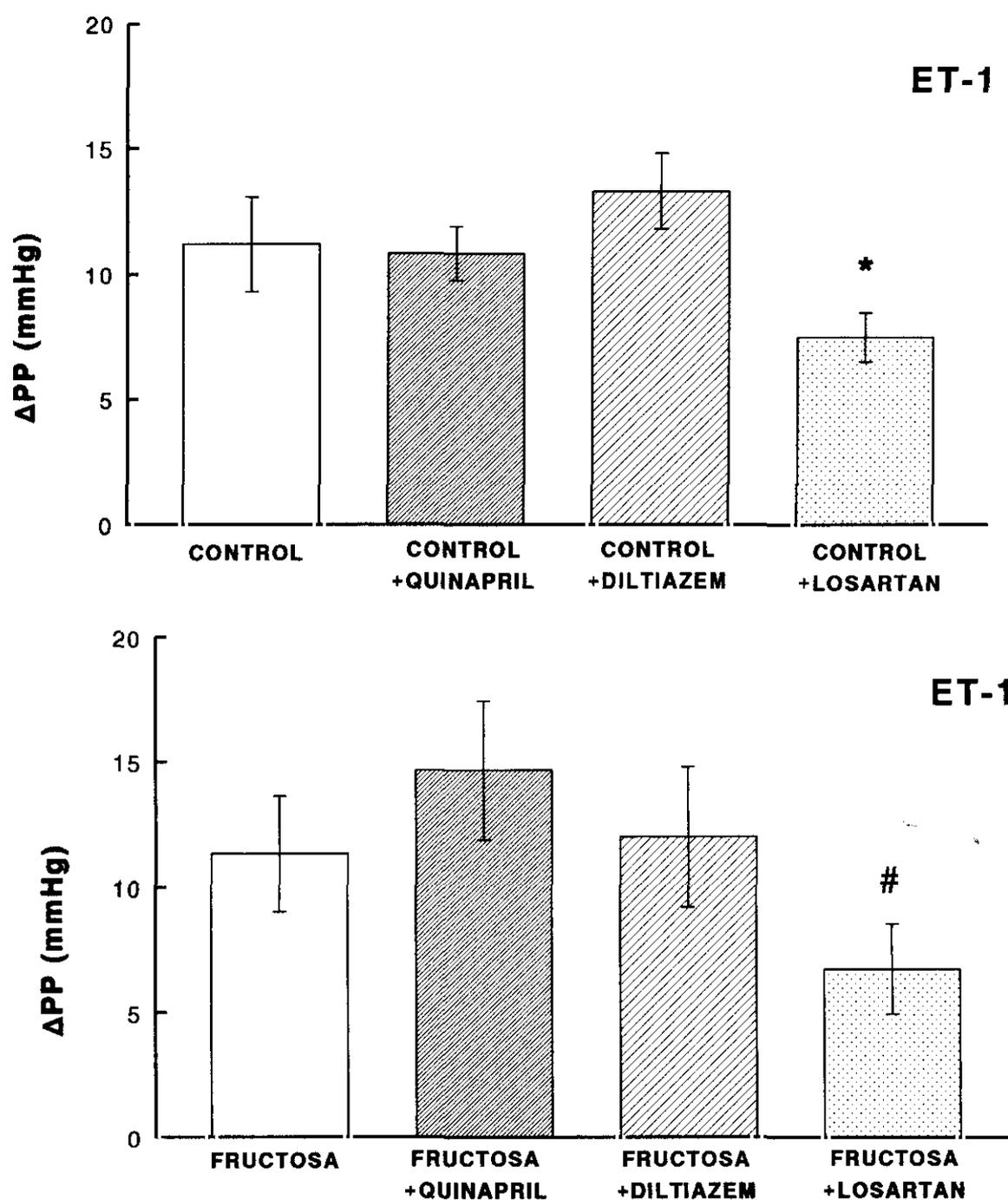


Figura 30.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a endotelina-1 (10 pmol) en lechos vasculares mesentéricos de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control sin tratamiento. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

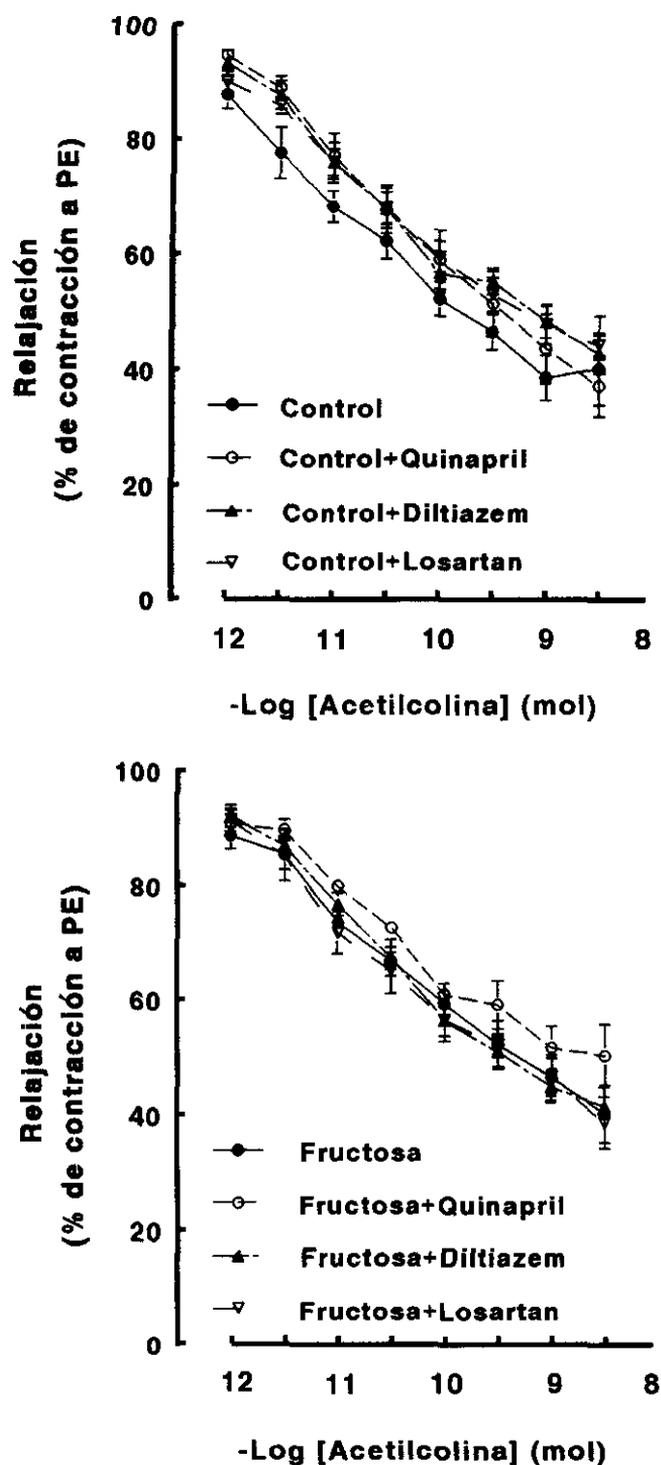


Figura 31.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a acetilcolina (10^{-12} - 10^{-8} mol) en lechos vasculares mesentéricos de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores expresan la media \pm eem.

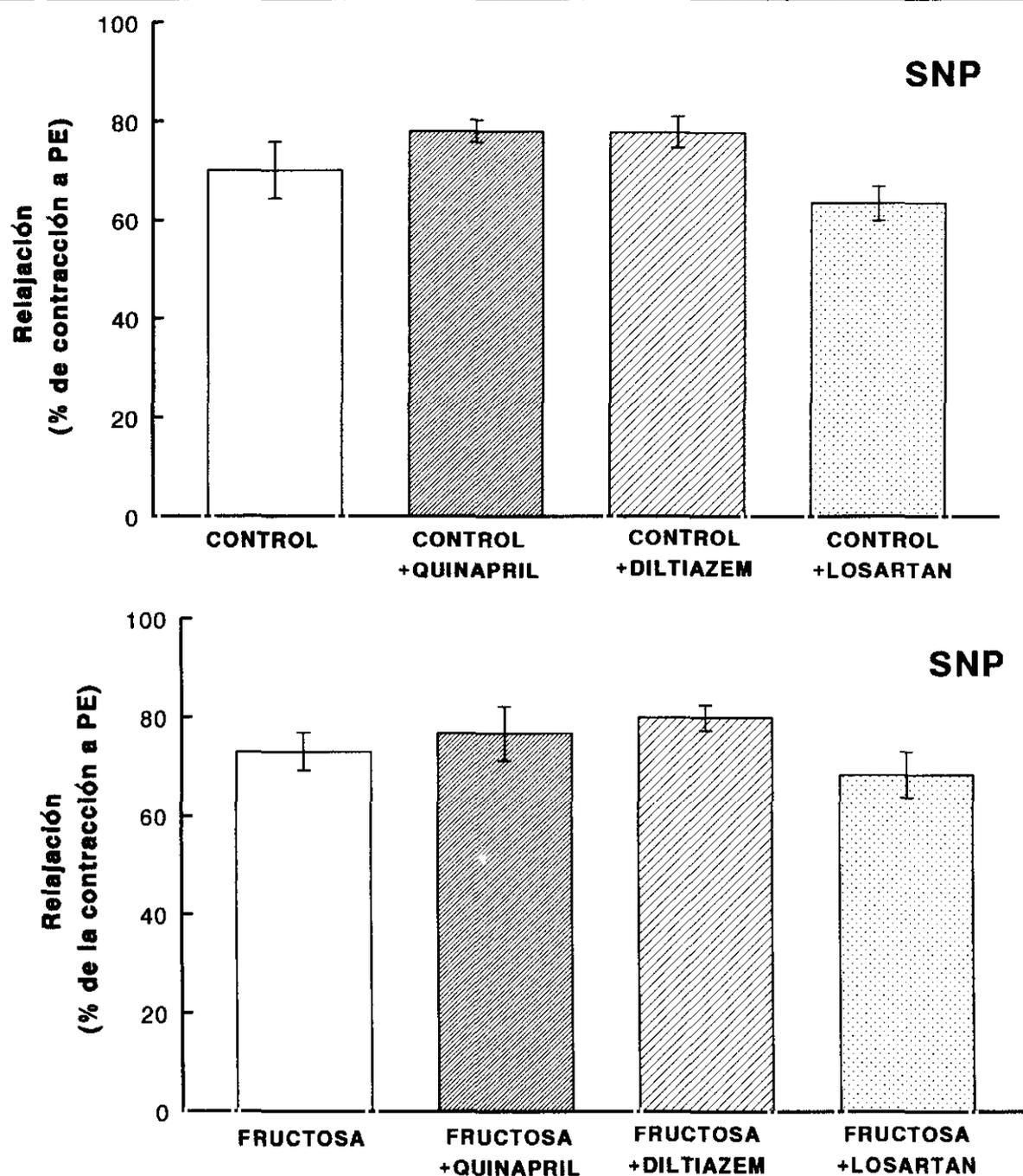


Figura 32.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a nitroprusiato sódico (10 nmol) en lechos vasculares mesentéricos de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem.

4.2.6.- Reactividad vascular en anillos de aorta

4.2.6.1- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasoconstrictora en ratas alimentadas con fructosa

La respuesta vasoconstrictora a KCl (80 mmol/L) no se modificó con ninguno de los tres tratamientos tanto en el grupo control, como en el grupo de animales alimentados con la dieta rica en fructosa (Figura 33).

La figura 34, panel superior muestra la respuesta contráctil a angiotensina II (10^{-7} mol/L) en anillos aórticos de los animales alimentados con la dieta control y que recibieron el tratamiento de quinapril, diltiazem o losartan. En esta figura se observa que quinapril incrementa significativamente la respuesta a AII con respecto al grupo control. Sin embargo los tratamientos de diltiazem o losartan no producen este efecto. Esto sugiere que el tratamiento con quinapril daría lugar a un mecanismo de regulación positiva de los receptores AT_1 .

En el grupo de animales alimentados con la dieta de fructosa (figura 34, panel inferior), el tratamiento con quinapril no da lugar a ninguna modificación en la respuesta a AII, sin embargo, los tratamientos de losartan o diltiazem disminuyen dicha respuesta respecto del grupo de fructosa siendo comparable a la que se observa en el grupo control. Esto sugiere que el bloqueo de los receptores AT_1 así como el de los canales de calcio, corrigen la respuesta exagerada a AII en las ratas alimentadas con fructosa. El hecho de que el tratamiento con quinapril no incremente la respuesta a AII respecto del grupo fructosa, podría ser debido, tal como se mostró, anteriormente, en panel inferior de la figura 18, a que la alimentación con fructosa por si sola produce un incremento significativo, respecto al grupo control, en dicha respuesta que quinapril no es capaz de incrementar.

En el panel superior de la figura 35 se muestran las curvas concentración-respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos aórticos de animales alimentados con la dieta control y

que recibieron el tratamiento de quinapril, diltiazem o losartan. Diltiazem redujo significativamente, la respuesta constrictora a fenilefrina respecto al grupo control (Figura 35, panel superior), sin embargo, los tratamientos de quinapril o losartan no modificaron esta respuesta. En los anillos aórticos de animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 35, panel inferior) y que recibieron el tratamiento de quinapril, diltiazem o losartan se observa que diltiazem redujo la respuesta constrictora a fenilefrina, aunque no de forma significativa, respecto al grupo fructosa mientras que los tratamientos de quinapril o losartan no produjeron este efecto. Este resultado indica que el bloqueo de la entrada de calcio extracelular estaría implicado en dicha respuesta constrictora.

La figura 36 muestra que ninguno de los tratamientos modificó la respuesta a endotelina (10^{-8} mol/L) en anillos de aorta tanto en el grupo de animales control como en el grupo de los animales alimentados con fructosa.

La presencia del inhibidor de la síntesis de NO, LNAME (10^{-4} mol/L) en el medio de incubación, en anillos con endotelio, incrementó la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en los tres grupos de tratamiento tanto en los animales alimentados con la dieta control (Figuras 37, 38 y 39 panel superior izquierdo) como con la dieta de fructosa (Figuras 37, 38 y 39 panel inferior izquierdo) en el mismo grado, lo que indica una participación del NO en la contracción a este agonista α -1-adrenérgico.

La respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos sin endotelio se incrementó tanto en el grupo control (Figuras 37, 38 y 39 panel superior derecho) como en el de fructosa (Figuras 37, 38 y 39 panel inferior derecho) con los tres tipos de tratamiento en la misma medida. Lo que sugiere una participación de los factores vasoactivos dependientes de endotelio en la contracción a fenilefrina.

4.2.6.2.- Efecto del tratamiento crónico con diltiazem, quinapril o losartan sobre la respuesta vasodilatadoras en ratas alimentadas con fructosa

La figura 40, panel superior muestra la vasorrelajación inducida por acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos aórticos de animales alimentados con una dieta control a los que se les administró quinapril, diltiazem o losartan. Estos tres tratamientos incrementaron ligeramente, aunque no de forma significativa, la respuesta vasodilatadora a acetilcolina respecto del grupo control.

En los anillos aórticos de animales alimentados con la dieta de fructosa (Figura 40, panel inferior), la respuesta a acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol /L) no fue modificada por ninguno de los tres tratamientos.

La vasorrelajación inducida por nitroprusiato sódico (10^{-10} - 10^{-6} mol /L) en anillos de ratas alimentadas con la dieta control (Figura 41, panel superior) no se modificó con ninguno de los tres tratamientos. Asimismo, ninguno de los tratamientos modificó dicha respuesta en las ratas que fueron alimentadas con la dieta de fructosa (Figura 41, panel inferior).

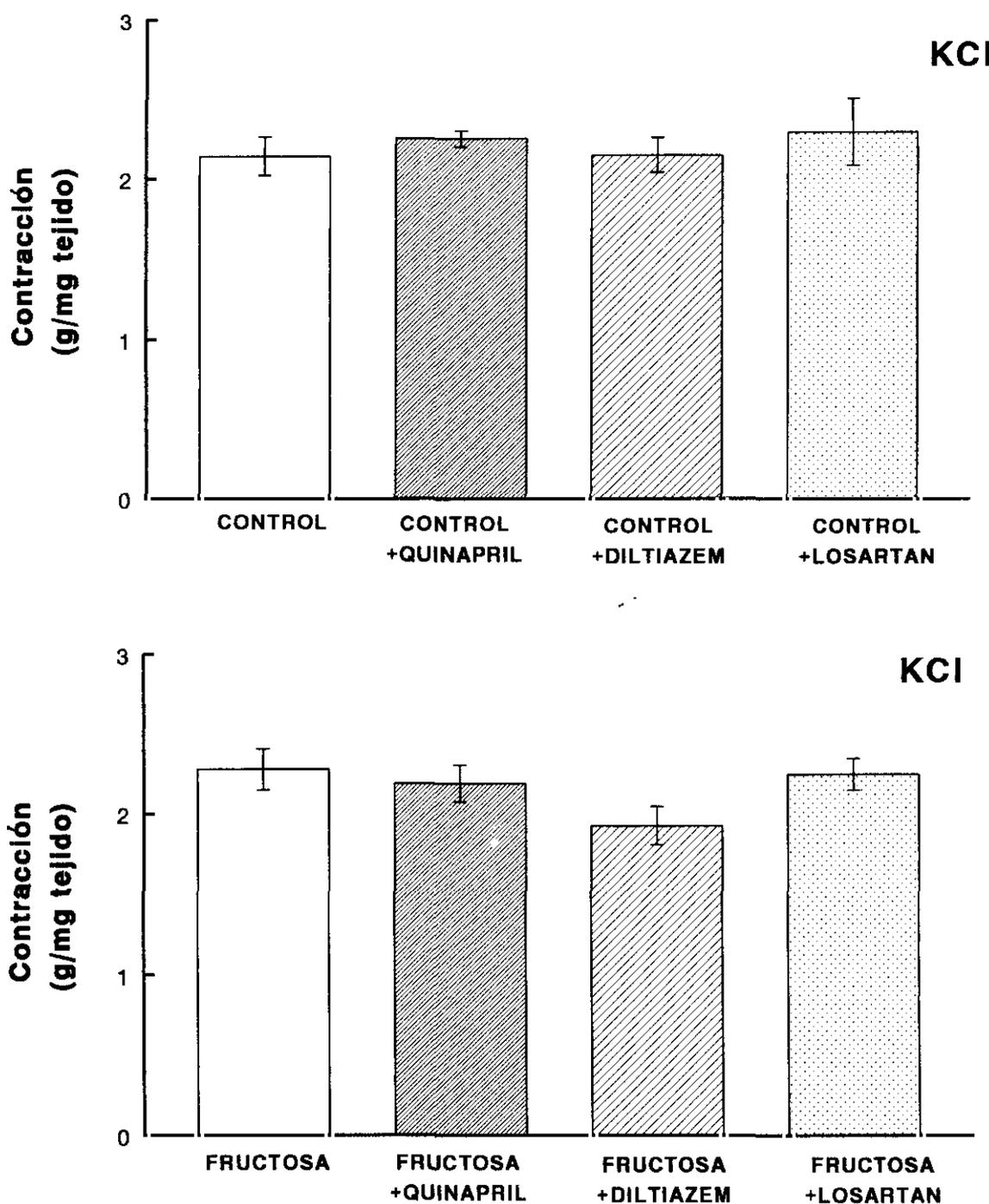


Figura 33.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a KCl (80 mmol/L) en anillos de aorta de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores expresan como la media \pm eem.

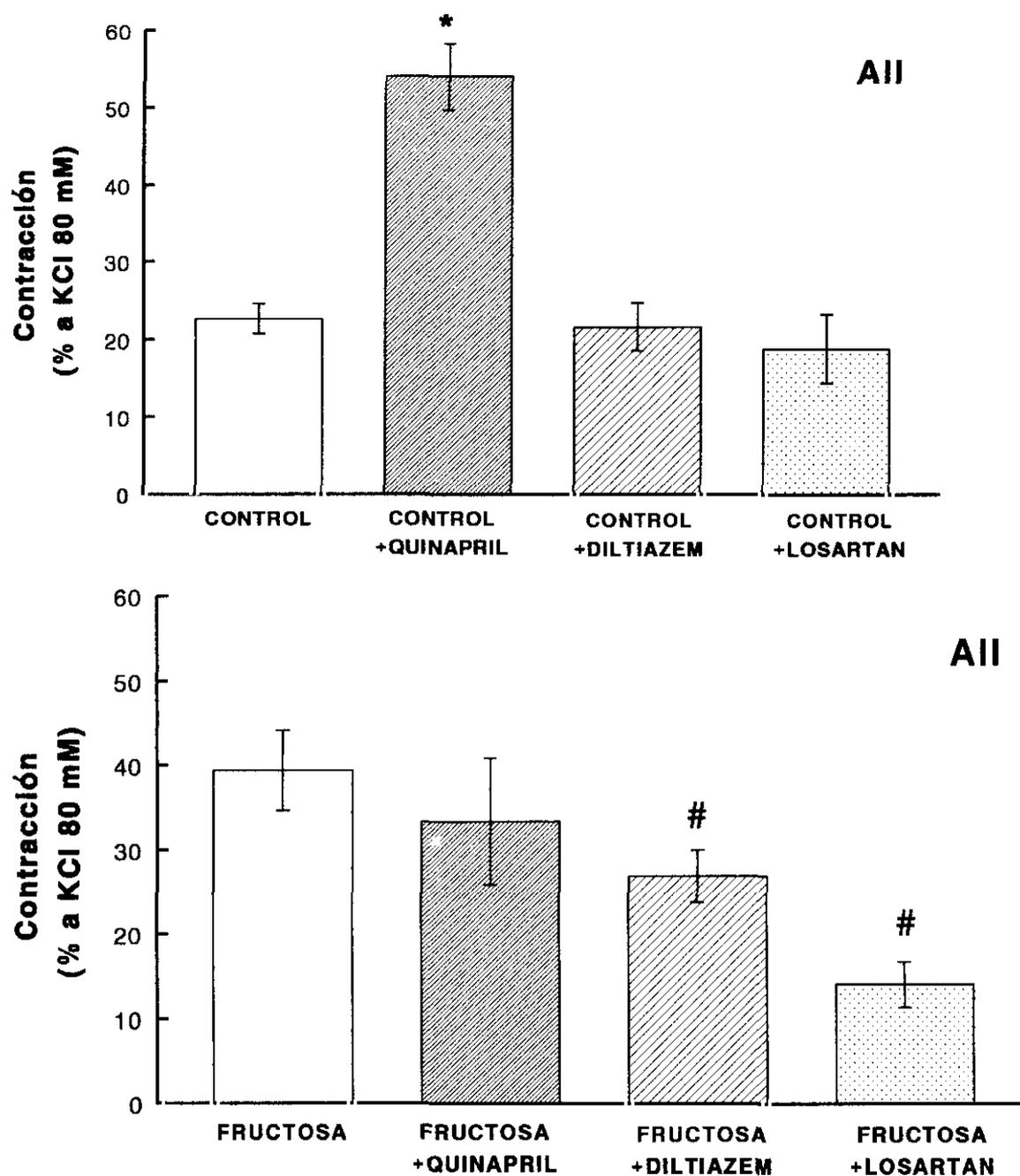


Figura 34.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a angiotensina II (10^{-7} mol/L) en anillos de aorta de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control sin tratamiento. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa sin tratamiento.

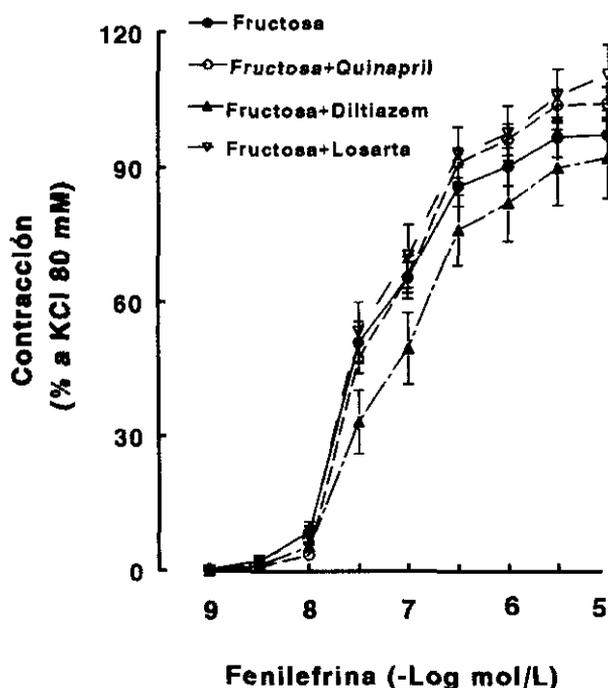
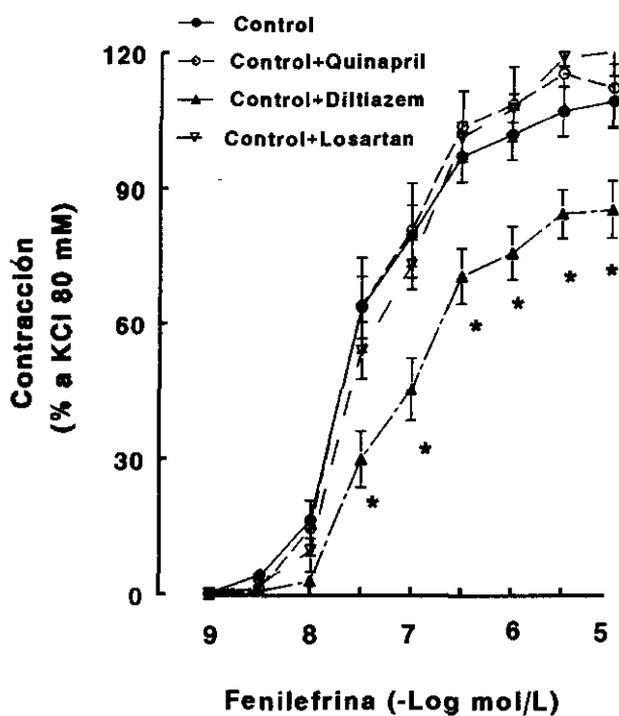


Figura 35.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control sin tratamiento.

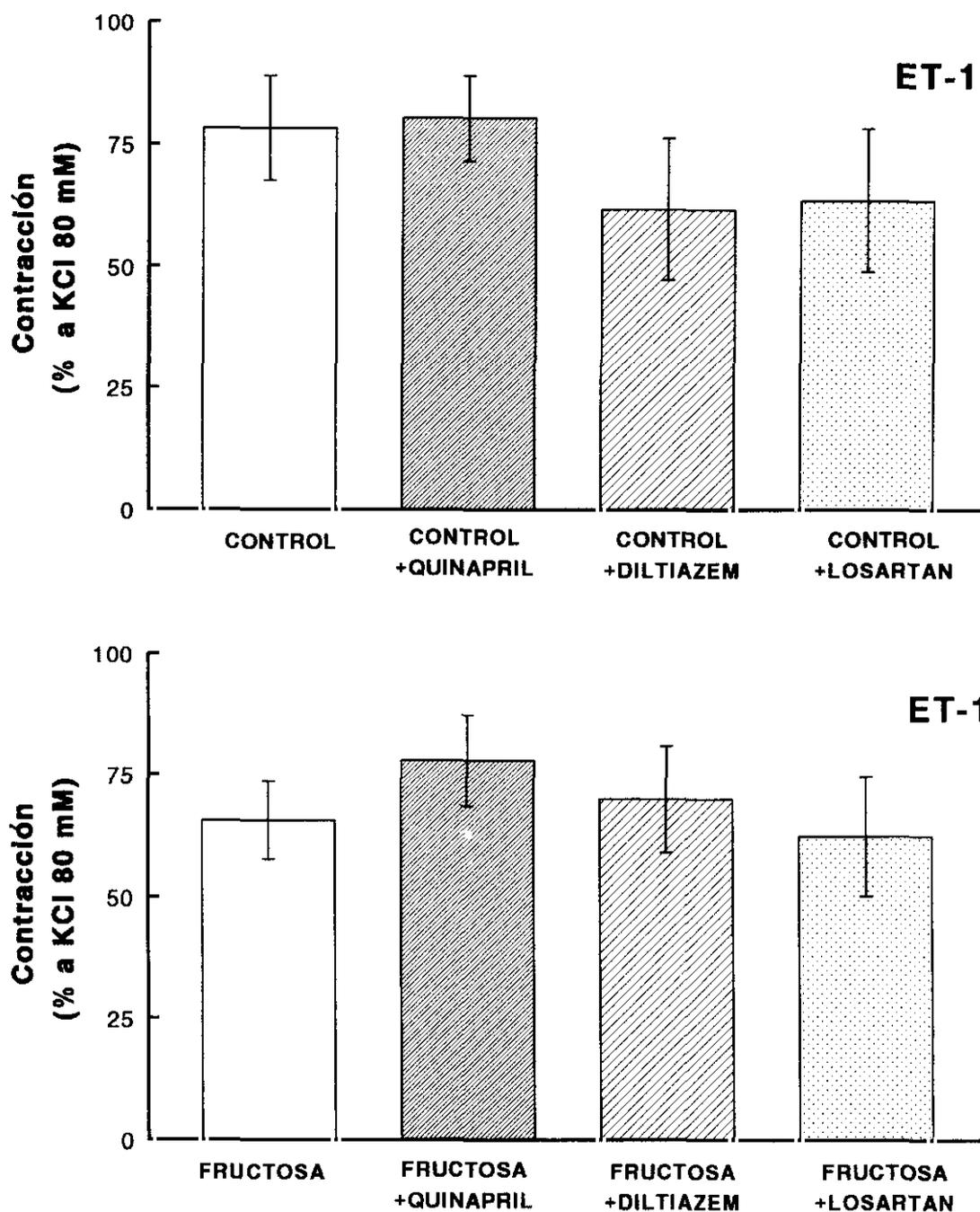


Figura 36.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a endotelina (10^{-8} mol/L) en anillos de aorta de ratas controles (panel superior) o ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem.

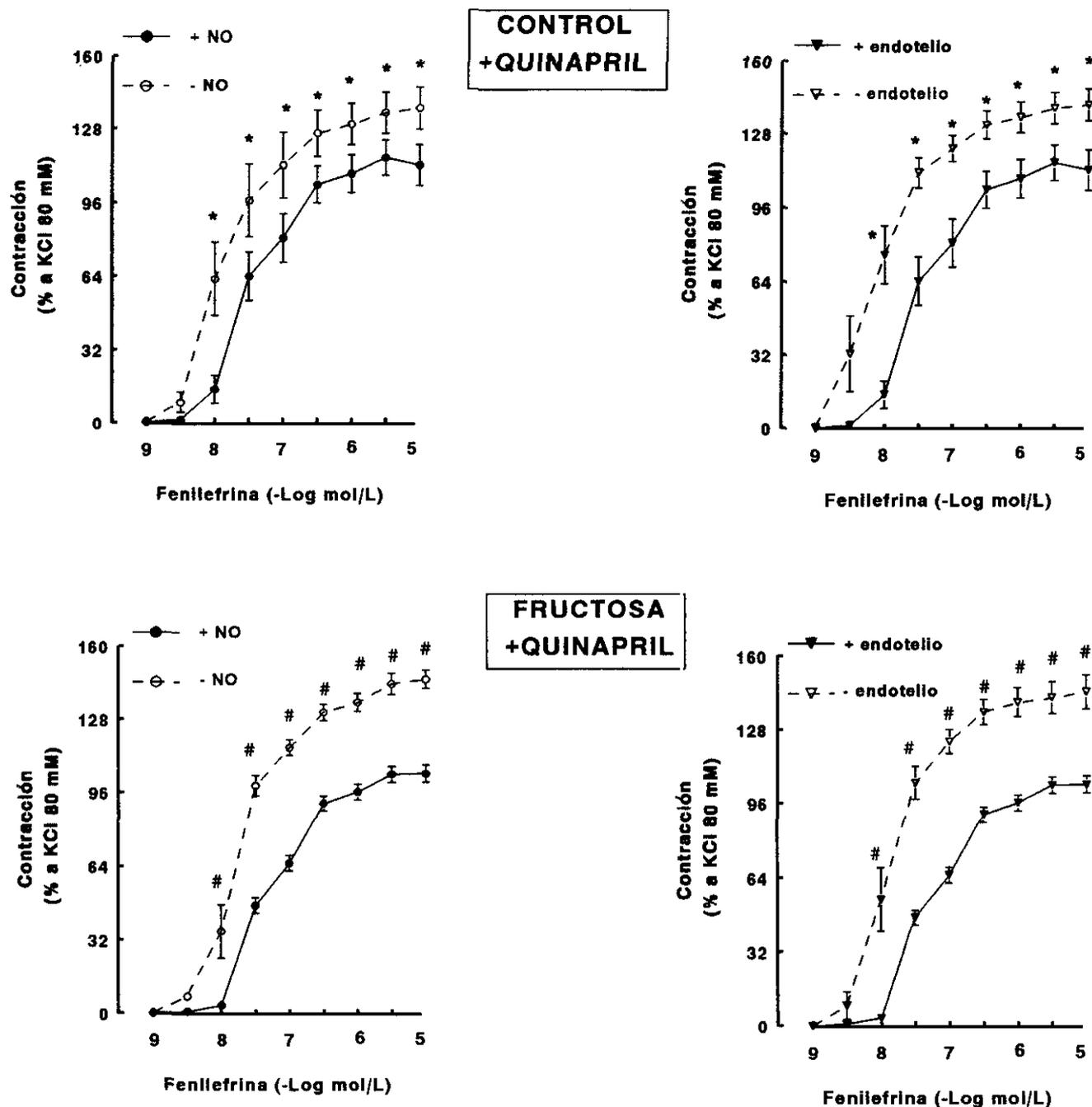


Figura 37.- Efecto del inhibidor de la síntesis NO, L-NAME (- NO) o de la ausencia de endotelio (- endotelio) sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta de ratas alimentadas con la dieta control (panel superior) o con la dieta de fructosa (panel inferior) tratadas con quinapril (10 mg/kg/día) durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control + quinapril. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa + quinapril.

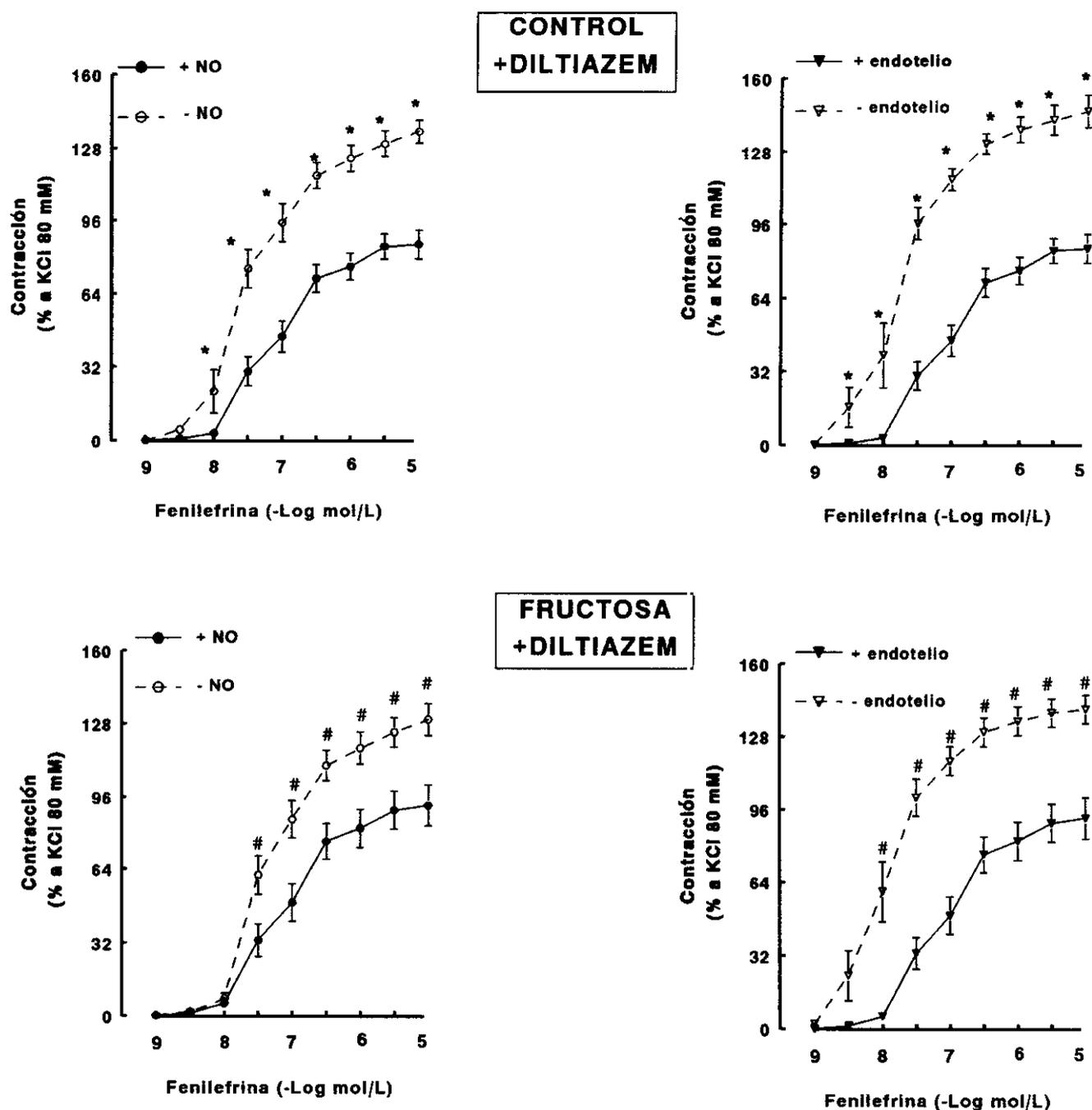


Figura 38.- Efecto del inhibidor de la síntesis de NO, L-NAME (- NO) o de la ausencia de endotelio (- endotelio) sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta de ratas alimentadas con la dieta control (panel superior) o con la dieta de fructosa (panel inferior) tratadas con diltiazem (75 mg/kg/día) durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control + diltiazem. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa + diltiazem.

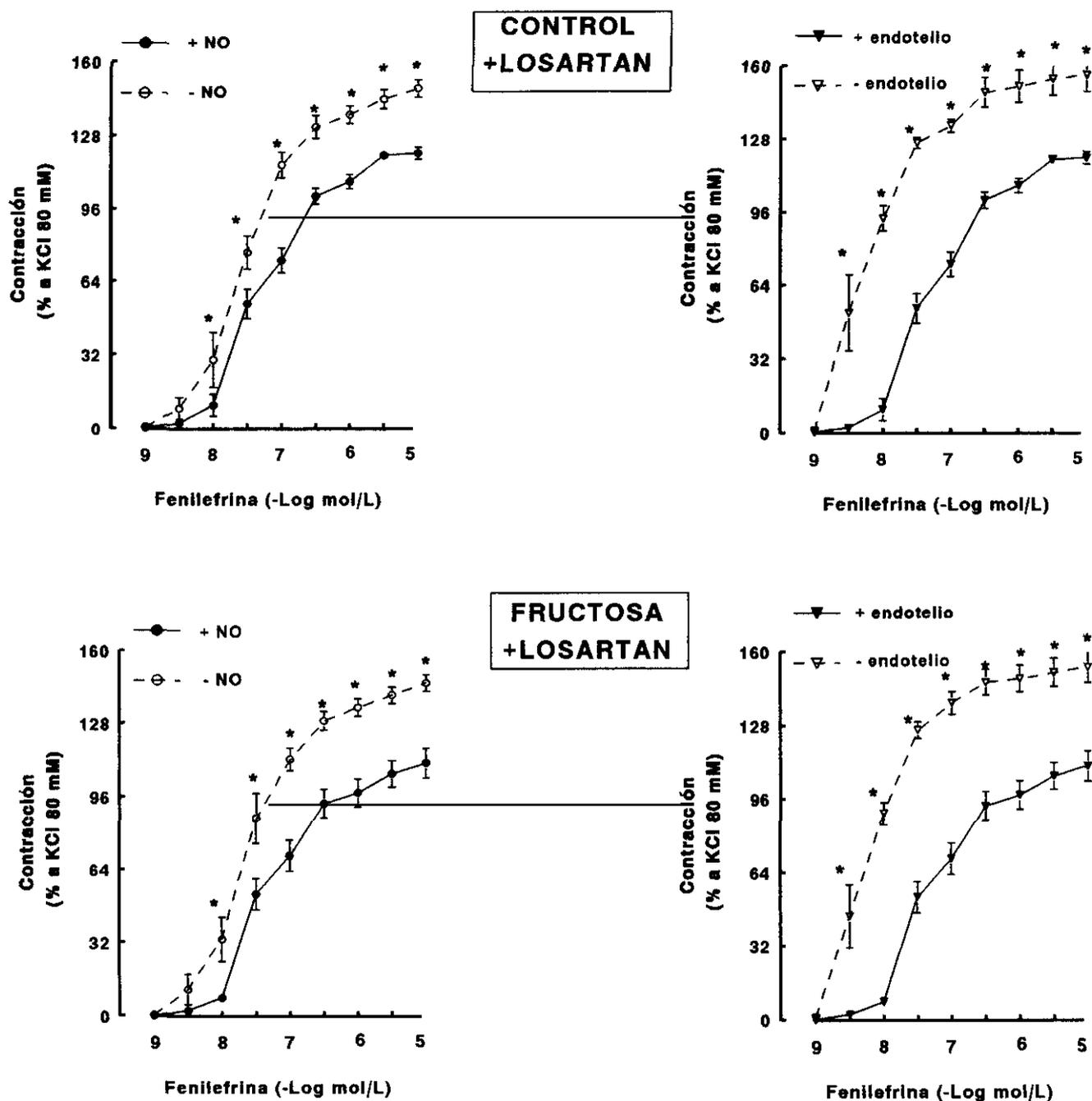


Figura 39.- Efecto del inhibidor de la síntesis de NO, L-NAME (- NO) o de la ausencia de endotelio (- endotelio) sobre la respuesta a fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta de ratas alimentadas con la dieta control (panel superior) o con la dieta de fructosa (panel inferior) tratadas con losartan (1 mg/kg/día) durante 4 semanas. Los valores se expresan como la media \pm eem. * $p < 0.05$ respecto del grupo control + losartan. # $p < 0.05$ respecto del grupo fructosa + losartan.

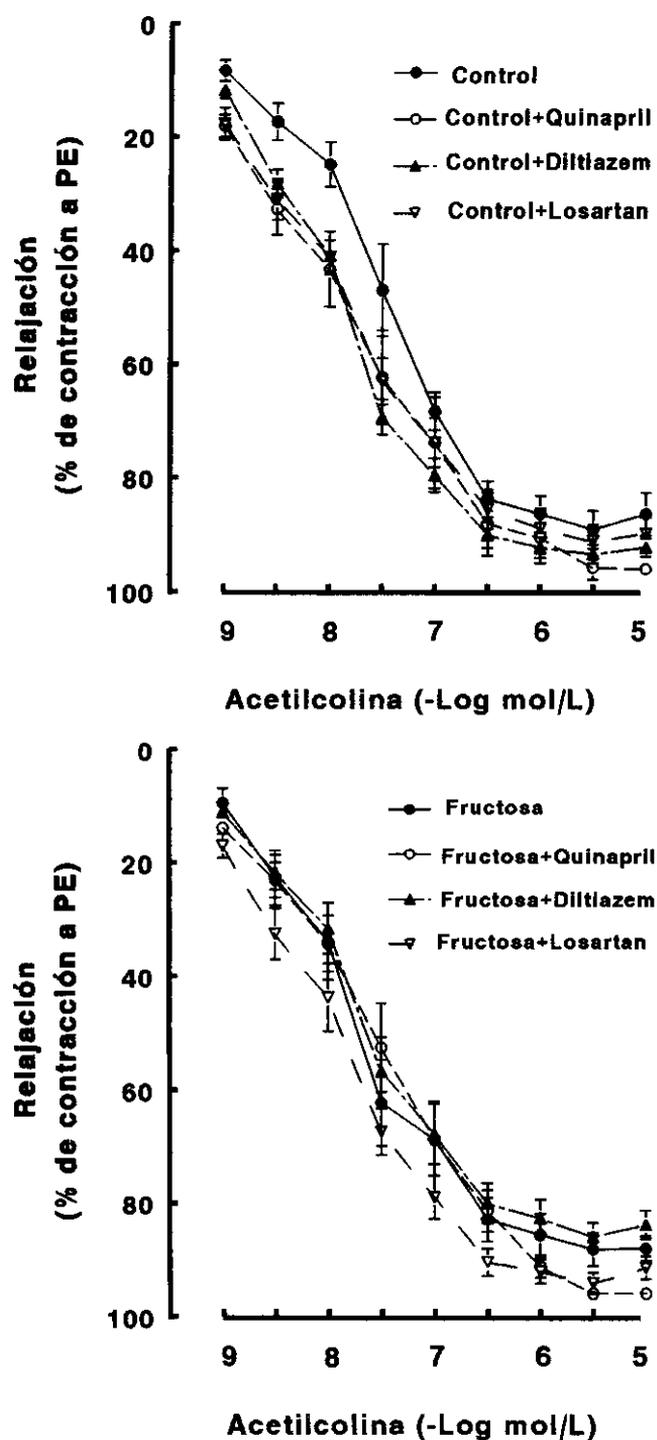


Figura 40.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a acetilcolina (10^{-9} - 10^{-5} mol/L) en anillos de aorta de ratas controles (panel superior) y ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem.

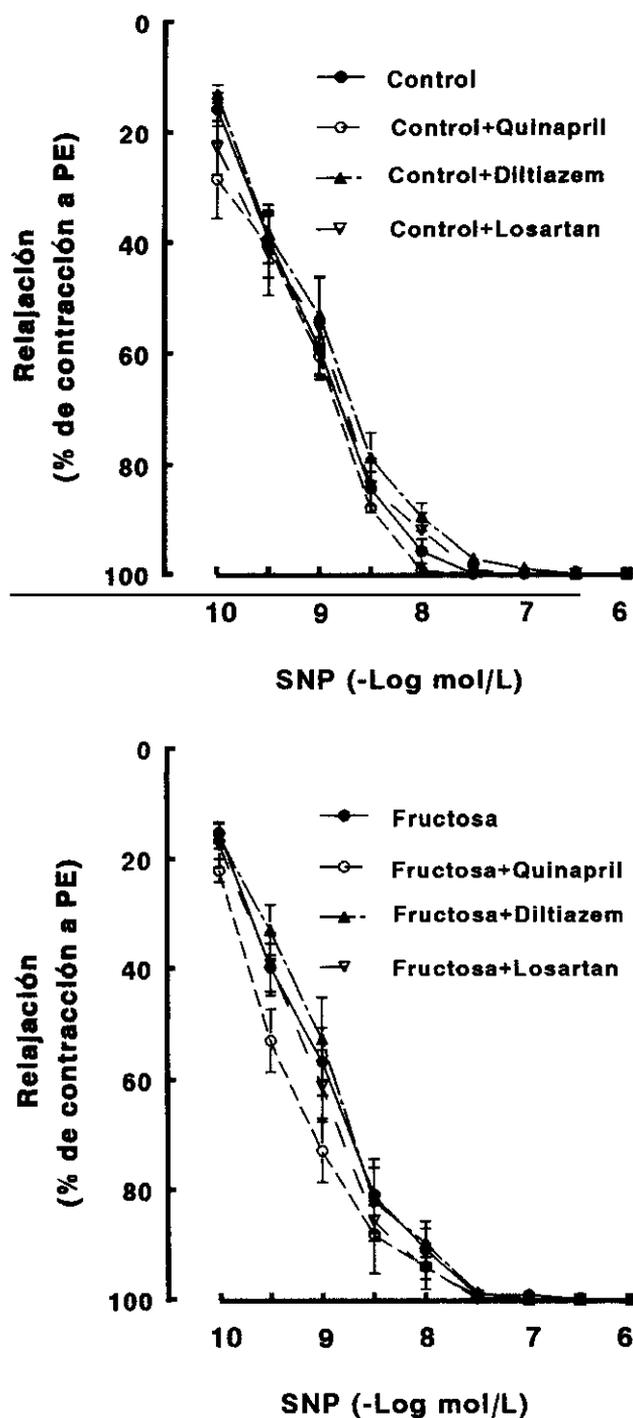


Figura 41.- Efecto del tratamiento con quinapril (10 mg/kg/día), diltiazem (75 mg/kg/día) y losartan (1 mg/kg/día) sobre la respuesta a nitroprusiato sódico (10^{-10} - 10^{-6} mol/L) en anillos de aorta de ratas controles (panel superior) y ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante 4 semanas (panel inferior). Los valores se expresan como la media \pm eem.

DISCUSIÓN

La administración crónica de una dieta con alto contenido en fructosa en ratas Sprague-Dawley durante cuatro semanas, elevó, ligeramente, los niveles de presión arterial. Esta hipertensión moderada se asoció a hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, sin producirse modificaciones en el peso corporal. Paralelamente, se desarrolló resistencia a la insulina, tal como muestra la respuesta alterada a un test de tolerancia a la glucosa observada en nuestro estudio.

Estas mismas alteraciones metabólicas y en los niveles de presión arterial aparecen en distintas patologías y parece existir una asociación entre ellas. Así, es un hecho demostrado que un gran porcentaje de los pacientes hipertensos esenciales presentan resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia (Ferrannini y cols., 1987, Reaven 1991b). Por otro lado, Reaven en 1988 (a) determinó que estas y otras alteraciones metabólicas como la diabetes mellitus (DM) tipo II, no dependiente de insulina así como la intolerancia a la glucosa y niveles más bajos de colesterol-HDL forman parte de lo que este autor denominó Síndrome X metabólico. Asimismo, existen varios modelos de ratas con hipertensión, como la rata obesa Zucker (Oonesen y cols., 1985), la rata Dahl sensible a la sal (Reaven y cols., 1991d) y la rata espontáneamente hipertensa (SHR) (Reaven y cols., 1989a) que manifiestan resistencia a la insulina. Este hecho, también apoya la idea de la existencia de una relación entre la hipertensión y la resistencia a la insulina.

La administración de dietas ricas en hidratos de carbono a animales de experimentación ha servido para profundizar en el estudio de estas alteraciones. Este tipo de dieta es capaz de elevar la presión arterial cuando es administrada a animales normotensos (Hall, 1966). Diversos experimentos confirman este hecho en distintas cepas de ratas normotensas como la rata Sprague-Dawley, Wistar-Kyoto y la rata Dahl resistente a la sal (Reaven y cols., 1991(a) y (b), Kotchen y cols., 1991). De igual modo, en animales hipertensos, como la SHR, la alimentación con hidratos de carbono también potencia el desarrollo de la hipertensión (Young y cols., 1981).

En estudios previos, Zavaroni y cols. en 1980 y Reaven y cols. en 1987 confirman que la administración de una dieta rica en fructosa a ratas Sprague-Dawley, además de producir hipertensión, produce hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia sin obesidad. Además de la fructosa, otros hidratos de carbono están relacionados con la aparición de estas alteraciones metabólicas, así Rosenmann y cols. en 1971 observaron que las ratas mantenidas con una dieta rica en sacarosa desarrollan resistencia a la insulina. También, la alimentación con fructosa en voluntarios humanos sanos dio lugar a hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia (Szanto y cols., 1969) así como a la disminución en la captación de glucosa estimulada por insulina (Beck-Nielsen y cols., 1978) y al aumento de la presión arterial (Israel y cols., 1983). En otro modelo experimental como son los perros mongrel, Martínez y cols. en 1994 demostraron que la administración de una dieta rica en fructosa durante cuatro semanas, reproducía estas mismas características.

5.1.- PRESIÓN ARTERIAL, HIPERINSULINEMIA Y RESISTENCIA A LA INSULINA

Distintos experimentos muestran que tras la administración de dietas ricas en fructosa a animales normotensos, se obtienen incrementos similares de presión arterial, independientemente, de la duración del período de alimentación de dicha dieta. En estudios previos estudiamos la presión arterial en ratas alimentadas con la dieta de fructosa durante dos, cuatro ó diez semanas y observamos que el incremento en la presión arterial que se desarrolló tras la 2ª semana de alimentación con dicha dieta se mantuvo hasta el final del experimento sin variaciones significativas, sugiriendo que el incremento de la presión arterial alcanzado no es dependiente del tiempo de administración de la dieta. Esta idea ha sido corroborada en diversos experimentos en los que la alimentación de animales normotensos con una dieta con alto contenido en fructosa produce un incremento de la presión arterial que no aumenta más a pesar de que dichos animales sigan alimentándose con dicha dieta durante más tiempo. Zavaroni y cols. en 1980 demostraron que la alimentación con fructosa en ratas incrementaba la presión arterial tras la primera semana de administración. Asimismo, Hwang y cols. en 1987 demostraron que este tipo de dieta produce, a la segunda semana, un incremento de presión

arterial de unos 20 mm de Hg en ratas. Park y cols. en 1992 mostraron que tras la alimentación con fructosa en ratas durante doce meses, el incremento de presión arterial observado era de, aproximadamente, 20 mm Hg y dicho incremento se mantenía constante tanto a los tres meses de comenzar el estudio como a los doce meses de alimentación con dicha dieta. Con el mismo tipo de dieta, pero esta vez administrada a perros mongrel, Martínez y cols. en 1994 observaron un incremento de, aproximadamente, 20 mm Hg de presión tras 28 días de alimentación con este tipo de dieta.

Estos mismos autores han encontrado que el incremento observado en la presión arterial, se encontraba asociado a otras alteraciones metabólicas como son la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina y la hipertrigliceridemia. Dichos estudios están en concordancia con el presente trabajo, puesto que encontramos el mismo tipo de alteraciones, sugiriéndose una asociación entre ellas.

Se han propuesto dos posibles hipótesis para explicar la relación entre la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina y la hipertensión:

- 1- Es posible que tanto la hiperinsulinemia como la resistencia a la insulina ocurran tras múltiples cambios secundarios al desarrollo de la hipertensión. La hipertensión afecta a numerosos órganos y sistemas los cuales podrían estar implicados en el mantenimiento de la presión arterial elevada.
- 2- La hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina podrían dar lugar al desarrollo de hipertensión.

Respecto a la hipótesis número 1, es conocido el hecho de que la hipertensión se asocia a un incremento de las resistencias periféricas totales (Guyton y cols, 1969). Asimismo, se ha postulado que en la situación de resistencia a la insulina y en la consiguiente hiperinsulinemia compensadora, se da un incremento en las resistencias vasculares la cual empeora la captación de glucosa por parte del músculo esquelético (Julius y cols. 1991, Baron y cols., 1993). En una

situación de resistencia a la insulina, se reduce el flujo sanguíneo al tejido, principalmente en el músculo esquelético (Ferrannini 1992). Esta disminución de flujo sanguíneo al tejido es responsable del empeoramiento de la captación de glucosa por parte del músculo esquelético.

En contra de que la hipertensión sea la causa de la aparición de la resistencia a la insulina hay que destacar el hecho de que en una situación de hipertensión, el incremento de las resistencias vasculares incrementadas, no va necesariamente acompañado de una disminución de flujo sanguíneo al tejido. De hecho, existen sistemas reguladores que incrementan las resistencias periféricas vasculares para aumentar el flujo a los tejidos (Ferrannini 1992). Por lo tanto, al no estar disminuido el flujo a los tejidos, teóricamente, tampoco está empeorada la capacidad del músculo esquelético para la captación de glucosa. Es decir, la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia no parecen ser consecuencia del desarrollo de hipertensión.

Para demostrar si la hipertensión podría causar hiperinsulinemia o resistencia a la insulina, Buchanan y cols en 1991 estudiaron las respuestas a glucosa y a insulina tras la administración intravenosa de glucosa en ratas con hipertensión renovascular inducida mediante la colocación de un clip en la arteria renal. Estos autores observaron que ambas respuestas eran idénticas a las de los animales control, sugiriendo que los mecanismos implicados en la hipertensión renovascular no causan hiperinsulinemia ni resistencia a la insulina. Este modelo de hipertensión, aunque es distinto al de nuestro modelo experimental, apoya el hecho de que la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina no son consecuencia de la hipertensión.

Respecto a la 2ª hipótesis planteada, existen controversias acerca de si es la hiperinsulinemia o la resistencia a la insulina la causa que subyace en el desarrollo de hipertensión. Modon y cols. en 1980 demostraron que un aumento de la actividad física de ratas alimentadas con fructosa incrementaba la sensibilidad a la insulina y reducía tanto la hiperinsulinemia como el incremento de presión arterial inducidos por dicha alimentación. Hwang y cols. en 1987 sugirieron que la hiperinsulinemia podría ser la responsable del incremento de presión arterial observado en ratas alimentadas con una dieta con alto contenido

en azúcares simples. Estos mismos autores en 1989, basándose en que la somatostatina suprime la secreción de insulina por parte de las células β del páncreas, demostraron que la infusión de somatostatina en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa, además de normalizar la hiperinsulinemia atenuaba el incremento de presión arterial observado en estos animales, sugiriendo que la concentración plasmática de insulina juega un papel en la regulación de la presión arterial. En estudios en humanos, se han obtenido resultados similares. En pacientes con resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertensión, la somatostatina logró disminuir tanto la presión arterial como la insulina plasmática (Izumi, 1980, Caretta, 1989).

Existen discrepancias acerca de que la presión disminuya debido al efecto de la somatostatina sobre la inhibición de la secreción de insulina, ya que la somatostatina no sólo inhibe la secreción de insulina, sino que además tiene otros muchos efectos que no fueron controlados en los estudios citados y esto pone en duda que la respuesta depresora sea solamente debida a la disminución de los niveles de insulina. La somatostatina ejerce un efecto sobre el SRA produciendo una disminución de la presión arterial que es independiente de los efectos que ejerce la somatostatina sobre el páncreas endocrino (Boscaro y cols., 1982). Por tanto no queda aclarado que la capacidad de la somatostatina sobre la disminución de presión arterial se deba únicamente a la supresión de la secreción de insulina.

Por otro lado, se ha demostrado que el vanadyl sulfato, una sustancia que disminuye los niveles plasmáticos de insulina en ratas no diabéticas mejora la sensibilidad a la insulina, previene la hiperinsulinemia y la hipertensión inducidas por la administración de una dieta rica en fructosa en ratas (Bhanot y cols., 1994), sugiriendo igualmente que la hiperinsulinemia puede contribuir al desarrollo de la hipertensión en estos animales. El tratamiento con vanadyl sulfato no modificó los niveles de catecolaminas plasmáticas, sugiriendo que la disminución de la presión arterial no fue debido a ningún cambio en la actividad simpática. Sin embargo, estudios realizados en el hombre (Rowe, 1981) demuestran que un incremento agudo de la concentración de insulina plasmática produce un aumento significativo de los niveles plasmáticos de catecolaminas, que puede producir un aumento en los niveles de presión

arterial. Un incremento en la actividad del SNS ha sido uno de los mecanismos propuestos para explicar el incremento de presión arterial observado en los animales alimentados con dietas ricas en hidratos de carbono. Sin embargo, en el estudio realizado por Hwang y cols. en 1987 se observó que la administración de clonidina, bloqueante específico ganglionar de la actividad del SNS, a ratas alimentadas con fructosa consiguió disminuir los niveles de presión arterial aumentados, aunque las alteraciones metabólicas persistieron. Estos resultados sugieren que si la dieta de fructosa da lugar a una elevación en la actividad del SNS, este cambio no es el responsable de la aparición de la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia. Por tanto, la capacidad de la clonidina para prevenir la hipertensión en estos animales no significa que un aumento de la actividad del SNS sea la causa de la hipertensión observada en las ratas alimentadas con fructosa. Nuevamente, estos datos parecen estar de acuerdo con que la resistencia a la insulina y/o la hiperinsulinemia juega un papel central en el desarrollo de la hipertensión observada en ratas alimentadas con hidratos de carbono.

Por otra parte Brands y cols. en 1994 no observaron una elevación de la presión arterial en 24 horas en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa cuyas concentraciones de insulina plasmáticas eran normales. Asimismo, tampoco observaron ningún cambio en la actividad del SNS. Sin embargo, Fournier y cols. en 1986 observaron un incremento en la excreción urinaria de catecolaminas en ratas alimentadas con una dieta rica en sacarosa. Una posible explicación pudiera ser que la ingesta de una dieta rica en azúcares produzca un ligero incremento de la actividad del SNS que no fuera suficiente para incrementar la presión arterial crónicamente, aunque sí puede elevarla inicialmente. Así, Kleinjans y cols. en 1981 observaron que la infusión intravenosa de noradrenalina producía una hipertensión leve en ratas conscientes. La aparición de estas alteraciones mediante otros hidratos de carbono como la glucosa y la sacarosa parecen ser debidas a mecanismos distintos. Así, Johnson y cols. en 1993 observaron que la alimentación con sacarosa sólo incrementaba los niveles de presión arterial en ratas cuando a estas se les administraba conjuntamente una elevada concentración de sodio en la dieta. Sin embargo, el incremento de presión arterial observado en estos animales no fue acompañado de un incremento en las concentraciones de insulina y glucosa plasmáticas. Este hecho sostiene la idea de que la alimentación con sacarosa da lugar al incremento de presión

arterial a través de mecanismos diferentes de los que participan en las alteraciones inducidas por la dieta de fructosa sobre la presión arterial.

Varios investigadores han demostrado que una infusión continua de insulina en animales de experimentación no produce un incremento en la presión arterial. Una acción fundamental de la insulina es aumentar la captación de glucosa por parte del tejido periférico. Cuando esta acción se encuentra incrementada, también se incrementa la tasa metabólica, la cual causaría una vasodilatación periférica para permitir un flujo sanguíneo al tejido adecuado a la tasa metabólica incrementada (Guyton, 1980). Así, el efecto de la infusión de insulina en condiciones en que los tejidos tienen una sensibilidad normal a las acciones metabólicas de la insulina podría ser vasodilatación y disminución de la resistencia periférica total. Hall en 1990 (a y b) y Brands en 1991 (a) demostraron que el hiperinsulinismo crónico en perros no modifica en ellos la sensibilidad a la insulina. Realizaron estos estudios mediante la infusión crónica de insulina en perros normales, para mantener constante la glucemia se administraba, a estos animales, glucosa a una tasa de infusión constante. Estos animales mantenían una sensibilidad normal a la insulina incluso después de una prolongada hiperinsulinemia, ya que mientras la insulina fue infundida durante 28 días, la tasa de infusión de glucosa requerida para mantener unas concentraciones de glucosa plasmáticas normales se mantuvo constante. En el caso de que se hubiese desarrollado resistencia a la insulina, hubiera sido necesario disminuir la tasa de infusión de glucosa para evitar que aumentasen los niveles plasmáticos de glucosa. Este hecho está de acuerdo con la observación de que la hiperinsulinemia crónica no causa en el hombre la resistencia a la insulina (Tsutsu, 1990) y confirma el concepto de que la hiperinsulinemia es una respuesta compensadora a la resistencia a la insulina. El hecho de que los perros normales mantengan una sensibilidad normal a la insulina explica la observación de que la infusión sistémica de insulina produce una marcada y progresiva caída en la resistencia periférica total y un incremento del 30-40% en la frecuencia cardíaca (Brands, 1991b).

Por el contrario, en este mismo tipo de experimentos en ratas (Brands, 1991 (a) y Brands, 1992) éstas sí desarrollaron resistencia a la insulina. Un efecto de la resistencia a la insulina en el tejido periférico es una disminución de la capacidad de la insulina para estimular

la captación de glucosa y la vasodilatación periférica, con lo que se disminuiría el flujo sanguíneo al tejido. Laakso y cols. en 1990 observaron que el efecto de la insulina de incrementar el flujo sanguíneo al tejido durante la hiperinsulinemia en sujetos normales, no ocurría en sujetos con resistencia a la insulina. Una explicación del efecto presor de la infusión de insulina en ratas podría ser la aparición de resistencia a la insulina en el tejido periférico de estos animales. Así, en el caso de que los perros desarrollasen resistencia a la insulina, los efectos vasodilatadores periféricos de la insulina se atenuarían o incluso desaparecerían. De la misma manera si la resistencia a la insulina se mejorase en las ratas, la infusión de insulina podría disminuir la presión arterial de forma similar a como ocurre en perros con sensibilidad normal a la insulina. Estos datos sugieren que la hiperinsulinemia *per se* no es causa del aumento de presión arterial observado y que la resistencia a la insulina está más relacionada con dicho aumento. Sin embargo, hay que tener en cuenta que cuando dos alteraciones ocurren de manera simultánea y están tan relacionadas metabólicamente entre sí como la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina resulta difícil decidir cual de ellas es más importante.

En el presente estudio, la alimentación con fructosa en ratas Sprague-Dawley durante cuatro semanas dio lugar a la aparición de resistencia a la insulina, tal y como muestran las elevadas concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina que se observaron tras 15, 30, 60 y 90 minutos de una sobrecarga oral de glucosa en los animales alimentados con la dieta de fructosa comparándolos con los animales control.

A su vez, los niveles de insulina plasmática resultaron significativamente elevados después de cuatro semanas de alimentación con fructosa. Como hemos dicho anteriormente, los niveles de glucosa plasmáticos no estaban incrementados en estos animales. En estudios preliminares observamos que tanto los niveles de glucosa como de insulina plasmáticos se encontraban incrementados tras dos semanas de alimentación con fructosa en ratas, lo que significa que a pesar de la elevada concentración de insulina existente en plasma, posiblemente, aún no había transcurrido el tiempo necesario para el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. Esto se corroboró cuando a la cuarta semana de alimentación con fructosa, en la que

aunque seguían manteniéndose unos elevados niveles de insulina plasmáticos, la hiperglicemia desapareció. Park y cols. en 1992 no observaron variaciones en los niveles de glucosa plasmática en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa durante doce meses. Lo que sugiere que tras un largo periodo de administración de la dieta con fructosa los niveles de glucosa plasmáticos se normalizan, es decir, al igual que en nuestros resultados, la hiperinsulinemia es capaz de compensar la resistencia a la insulina existente, manteniendo unos niveles normales de glucosa en sangre. De acuerdo a la mayor parte de los estudios, el comienzo de la resistencia a la acción de la insulina viene marcado por una discreta intolerancia a la glucosa inicial que más tarde es acompañada de hiperinsulinismo compensador capaz de mantener normales los niveles de glucosa plasmáticos. En etapas más avanzadas del hiperinsulinismo que conducen a la aparición de la DM tipo II, llega un momento en que el páncreas deja de ser capaz de mantener elevados ritmos de secreción de insulina, posiblemente, debido a un agotamiento en la secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas o bien por una regulación a la baja de los receptores de insulina causado por el hiperinsulinismo. Por otro lado, es un hecho conocido que la desaparición del hiperinsulinismo produce la descompensación metabólica que se manifiesta con la aparición de la hiperglicemia (Hansen y cols., 1986). En los estudios previos citados anteriormente, observamos que el hiperinsulinismo causado por la alimentación con fructosa en ratas durante dos semanas llegaba a desaparecer si la alimentación con dicha dieta se prolongaba hasta diez semanas, aunque los valores de glucosa en sangre seguían siendo normales.

En resumen, parece ser que la resistencia a la insulina es la responsable de la aparición de la hiperinsulinemia compensadora y, secundariamente, al desarrollo de estas dos alteraciones se produciría la elevación de la presión arterial observada en la rata alimentada con fructosa.

Efecto del tratamiento antihipertensivo sobre la presión arterial, la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia

El presente estudio muestra como los tratamientos antihipertensivos con quinapril (un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina), diltiazem (un bloqueante de los canales de calcio), ó losartan (un antagonista del receptor AT₁ de angiotensina II) son capaces de prevenir el incremento observado en los valores de presión arterial, la hiperinsulinemia y la respuesta exagerada a una sobrecarga oral de glucosa inducida por la alimentación con una dieta rica en fructosa en ratas.

La A II es un vasoconstrictor que podría, potencialmente, disminuir el flujo sanguíneo al tejido muscular, causando un empeoramiento en la captación de glucosa por parte de dicho tejido. Contrariamente, Townsend y cols. en 1993 demostraron que dosis presoras de A II incrementaban la captación de glucosa mediada por insulina en músculo esquelético de sujetos normales.

Asimismo, la A II puede potenciar la actividad del SNS y un incremento en la actividad de éste podría estar relacionado con la resistencia a la insulina observada en la hipertensión esencial (Reaven, 1996). La hiperactividad del SNS parece estar relacionada con la patogénesis de este modelo, causando una elevación de la presión arterial así como un empeoramiento del flujo sanguíneo al músculo esquelético. Tanto los IECAs como los bloqueantes de los canales de calcio así como los antagonistas del receptor AT₁ de AII, son capaces de reducir la vasoconstricción debida a la estimulación adrenérgica (Cavero y cols., 1983, Qiu y cols., 1994). Además, la AII puede estar implicada en la biosíntesis de catecolaminas (Khairallah, 1972). Por lo tanto, quinapril , diltiazem y losartan podrían ejercer sus efectos beneficiosos tanto sobre la presión arterial como sobre la sensibilidad a la insulina, reduciendo la actividad simpática, la cual, como ya hemos dicho, podría jugar un importante papel en las alteraciones observadas en la rata alimentada con fructosa.

Gaboury y cols. en 1994, demostraron que los pacientes con hipertensión presentaban una correlación entre las respuestas presoras a AII y la resistencia a la insulina, sugiriendo que los pacientes con resistencia a la insulina se producía una mayor respuesta a agentes vasoactivos que podría contribuir a la elevación de la presión arterial. Por tanto, una explicación de las alteraciones metabólicas observadas en la rata alimentada con fructosa durante cuatro semanas podría ser un incremento en la vasoconstricción del músculo esquelético. Los tres tratamientos ejercerían sus efectos beneficiosos a través de sus acciones vasodilatadoras. Consecuentemente, una reducción de las resistencias periféricas podría restaurar el flujo sanguíneo al músculo esquelético, facilitando así la recaptación de glucosa.

El SRA juega un importante papel en la fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares. Los IECAs así como los antagonistas del receptor AT_1 de AII, pueden mejorar la resistencia a la insulina incrementando la sensibilidad a ésta en el tejido, particularmente en el músculo esquelético que es donde se encuentra, en mayor medida, una reducción a dicha sensibilidad (Pollare y cols, 1989; Iimura y cols 1995). Uno de los mecanismos a través de los cuales los IECAs y los antagonistas del receptor AT_1 de AII pueden afectar al metabolismo de los hidratos de carbono, contribuyendo al incremento del transporte de glucosa al músculo esquelético es la disminución de la formación de AII bien a través de la inhibición de la síntesis de la enzima convertidora de la angiotensina bien mediante el bloqueo de las acciones de la AII por el antagonismo de los receptores AT_1 de AII. Una menor producción y/o acción de AII implica vasodilatación e incremento del flujo sanguíneo al tejido, mejorándose la sensibilidad a la insulina. Hwang y cols. en 1989 no observaron cambios significativos en los niveles de AII circulantes en la rata alimentada con fructosa. Sin embargo, en otro modelo experimental como la SHR la actividad de renina tisular o la producción de A II se encontraban elevados sin que sus niveles sistémicos se encontrasen alterados (Williams 1988, Kost y cols., 1993). Por tanto la AII generada localmente podría inducir cierto grado de vasoconstricción periférica que contribuiría a la elevación de presión arterial y a la resistencia a la insulina observadas. Podría proponerse que incluso sin una elevada actividad del SRA circulante, la acción de la A II se sobreexpresase a pesar de que su actividad fuese normal. De

hecho, como se discute más adelante en nuestros experimentos, la vasoconstricción inducida por A II está incrementada en los anillos de aorta de las ratas alimentadas con fructosa.

Existen numerosos estudios clínicos que muestran los efectos beneficiosos de los IECAs y de los antagonistas del receptor AT_1 de AII a través de la reducción de los niveles o de la acción de la AII. Los IECAs mejoran la sensibilidad a la insulina en hipertensos esenciales (Ferrannini y cols., 1987, Pollare y cols., 1989), indicando la importancia de la supresión de la síntesis de A II ó de sus acciones. Iyer y cols. en 1996 observaron que en ratas alimentadas con fructosa el tratamiento con losartan durante dos semanas previno la hipertensión, la hiperinsulinemia así como la hipertrofia cardíaca que se observó en los animales tras la alimentación con fructosa, sugiriendo que el SRA modula tanto la hipertensión como la resistencia a la insulina y la hipertrofia cardíaca en este modelo experimental. Estos mismos autores determinaron los cambios producidos por la dieta con alto contenido en fructosa en ratas sobre los niveles de AII plasmáticos y sobre la densidad del receptor de AII en el ventrículo y en la aorta de estos animales. Observaron un incremento tanto en los niveles de AII plasmáticos como en la densidad del receptor de AII en el ventrículo tras cuatro semanas de alimentación con fructosa. Este resultado sugiere que el SRA participa en la elevación de la presión arterial así como en la hipertrofia ventricular observada en las ratas alimentadas con fructosa. Por tanto, la mejora de la sensibilidad a la insulina por el tratamiento con un IECA o con un antagonista de los receptores de AII, sugiere que la AII puede ser un factor implicado en la resistencia a la insulina que aparece en la hipertensión esencial (Pollare y cols., 1989; Iyer y cols., 1996)

Los IECAs pueden aumentar la disponibilidad de las prostaglandinas (PGs) vasodilatadoras. Asimismo, se han publicado numerosos estudios que muestran que los IECAs incrementan la disponibilidad de la cininas. El aumento de la actividad de las cininas puede contribuir en los efectos beneficiosos de los IECAs sobre la resistencia a la insulina (Böner, 1995). La acumulación de cininas puede ser responsable del incremento en la captación de glucosa mediada por insulina, posiblemente debido a un incremento de la producción local de PGs vasodilatadoras. Sin embargo, Chens y cols. en 1996 observaron que la mejora en la

tolerancia a la glucosa inducida por el inhibidor de la enzima de conversión de angiotensina, alacepril, no era debida a las cininas, ya que tras la infusión continua de este fármaco con o sin el antagonista del receptor B₂ de cininas, Hoe 140, no se observaron diferencias en los niveles de glucosa plasmática en ratas alimentadas con fructosa. En otro estudio se observó que la administración crónica de el inhibidor de la enzima de conversión de angiotensina, delapril, con o sin el antagonista del receptor B₂ de cininas, Hoe 140, en ratas alimentadas con fructosa, tampoco se obtuvieron diferencias en los niveles de glucosa plasmática (Shimamoto y cols., 1996). En discordancia con esta idea, el efecto beneficioso de la administración oral de captopril sobre la sensibilidad a la insulina en un modelo de resistencia a la insulina como es la rata obesa Zucker, fue eliminado cuando estos animales fueron previamente tratados con el antagonista del receptor B₂ de cininas, Hoe 140 (Henriksen EJ y cols., 1996). Erlich y Rosenthal en 1996, basándose en la idea de que los IECAs previenen la degradación de bradicinina y que ésta estimula la secreción de factores vasodilatadores derivados del endotelio, como el NO, sugirieron que éste participa en los efectos vasodilatadores y metabólicos de enalapril en el modelo de rata alimentada con fructosa, ya que el bloqueo de la síntesis de NO mediante L-NAME atenuó el efecto antihipertensivo así como la mejora de la sensibilidad a la insulina de enalapril. Otra consecuencia de las acciones de los IECAs es que se produce una acumulación de renina y AI (Todd y Heel, 1986) al interrumpirse el control de retroalimentación negativo que ejerce la AII sobre ellos, pudiendo así derivarse a otras vías enzimáticas generando otros productos como la A (1-7) que, como explicaremos más adelante, tiene efectos vasodilatadores.

Los antagonistas de los receptores AT₁, al igual que los IECAs, pueden aumentar la disponibilidad de las PGs vasodilatadoras. Por otra parte, es un hecho conocido que la AII estimula la síntesis de PGs en diversos órganos así como en diferentes lechos vasculares (Blumberg., 1977; Nasjletti y Malik, 1982). A su vez, las PGs sintetizadas modulan las acciones de la AII, de forma que se establece un equilibrio entre estos factores que resulta esencial para el control del tono vascular (Mullane y Moncada, 1980). Jaiswal y cols. en 1991 observaron en células cultivadas de músculo liso vascular y en astrocitos que el bloqueo de los receptores AT₁ con losartan estimulaba la síntesis de PGs. Dado que también la AII estimula la

formación de PGs, dichos autores sugirieron que losartan podría presentar efectos agonistas y actuar de forma similar a la AII. Sin embargo, se ha demostrado ampliamente que losartan es un agonista de los receptores AT₁ sumamente específico (Wong y cols., 1991) que carece de los efectos agonistas postulados por Jaiswal y cols. por lo que el incremento de la síntesis de PGs observado durante la administración de losartan se debería a un mecanismo distinto al de la simple unión de losartan a los receptores AT₁. Se ha observado que además de la AII, otros componentes del SRA como la A (1-7) constituyen un importante estímulo para la síntesis de PGs en las células endoteliales de aorta porcina (Jaiswal y cols., 1992). En este tipo celular se ha comprobado que la A (1-7) estimula la producción de PGI₂ y PGE₂. Además, se abordó el estudio de los receptores de angiotensina que participaban en esta acción y se comprobó que la estimulación de la producción de PGs por la A (1-7) no se producía a través de los receptores AT₁ y AT₂. De estos trabajos se desprende que el SRA podría promover la síntesis de PGs a través de receptores distintos de los ya caracterizados, AT₁ y AT₂. En presencia de losartan, la AII, al tener impedida su unión al receptor AT₁, sería susceptible de ser más fácilmente degradada a A (1-7), la cual posiblemente se uniría a otros receptores AT_x y a través de estas uniones podría inducirse la síntesis de PGs. Se ha comprobado que durante el tratamiento con losartan se produce una acumulación de la A (1-7). De esta forma, las PGs sintetizadas tendrían un efecto hipotensor sinérgico al de losartan.

Con todo lo expuesto anteriormente, el incremento de PGs vasodilatadoras podría estar implicado en los efectos beneficiosos de quinapril y losartan mejorando la resistencia a la insulina y reduciendo la presión arterial. Sin embargo, el hecho de que, como discutiremos a continuación, el tratamiento con diltiazem también mejoró la resistencia a la insulina y disminuyó la presión arterial en los animales alimentados con fructosa, sugiere que los efectos beneficiosos observados con quinapril y losartan podrían ser principalmente debidos a la supresión de la A II y no al aumento de la disponibilidad de PGs vasodilatadoras.

La hipertensión y la diabetes pueden considerarse alteraciones relacionadas con el metabolismo del calcio. Levy y cols en 1989, observaron un aumento en los niveles celulares de calcio, así como una reducción de la actividad ATPasa de calcio en células del músculo

esquelético y en eritrocitos de ratas con resistencia a la insulina. Resnick y cols. en 1991 encontraron una elevada concentración de calcio citosólico en plaquetas de pacientes con DM tipo II. Sowers y cols. en 1989 observaron este mismo hecho en pacientes con hipertensión esencial. A pesar de que el papel de la insulina en la regulación del metabolismo del calcio sigue siendo controvertido, existen trabajos acerca de los efectos de la insulina sobre la movilización y el transporte del calcio (Desnuelle y cols., 1987, Pershadsingh y cols., 1979). En el estudio realizado en 1993 por Draznin, el bloqueante de los canales de calcio, verapamil, fue capaz de bloquear el incremento de calcio citosólico observado en adipocitos aislados incubados durante 24 horas con insulina en un medio glucosado.

Es un hecho conocido que el hiperinsulinismo produce alteraciones sobre el transporte catiónico de la membrana. La resistencia a la insulina disminuye la actividad de las bombas Ca^{2+} -ATPasa y Na^{+} - K^{+} -ATPasa, de manera que se produce un incremento en la concentración citoplasmática de calcio en las células de la musculatura lisa vascular que es capaz de incrementar las resistencias vasculares periféricas. A su vez la insulina también ejerce acciones sobre el intercambiador Na^{+} - H^{+} , incrementando su actividad pudiendo dar lugar a una acumulación de sodio capaz de incrementar la concentración citoplasmática de calcio en la hipertensión esencial (Aviv y cols., 1988). Dicho incremento está implicado en la hipertensión vascular asociada con la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia (Weidman y cols., 1985).

Como hemos dicho anteriormente, la vasoconstricción periférica podría ser causa de las alteraciones presoras y metabólicas que se observan en la rata alimentada con fructosa. El hecho de que diltiazem mejore dichas alteraciones apoya la idea de que una alteración en el metabolismo del calcio en la célula muscular lisa, podría estar implicada en la vasoconstricción periférica que aparece en nuestro modelo experimental. Los bloqueantes de los canales de calcio son vasodilatadores arteriales que reducen la concentración citosólica de calcio, impidiendo la entrada de éste, principalmente, a través de los canales de calcio tipo L o T dependientes de voltaje en las células del músculo liso vascular. Esta acción podría reducir la presión arterial elevada e incrementar el flujo sanguíneo al músculo esquelético, mejorando de esta forma la resistencia a la insulina. Los bloqueantes de los canales de calcio reducen la

vasoconstricción mediada por AII, el SNS u otros factores constrictores (Millar y cols., 1983) y normalizan la presión arterial en un modelo de hipertensión en el cual ésta es inducida mediante la infusión de AII (Sterzel y cols, 1984). De esta manera, diltiazem ejercería un efecto beneficioso interfiriendo con la AII en la rata alimentada con fructosa.

En resumen, estos resultados sugieren que las alteraciones en el metabolismo del calcio en la célula muscular lisa, en parte mediadas por la AII u otros factores vasoconstrictores parecen jugar un papel importante tanto en la resistencia a la insulina como en la elevación de la presión arterial inducidas por la alimentación con fructosa en ratas.

5.2.- FUNCIÓN RENAL

La insulina puede ejercer efectos agudos sobre el riñón modificando su función. Dicha modificación pudiera ser la responsable del desarrollo de la elevación de la presión arterial. Diversos estudios relacionan la insulina con la retención de sodio y el consiguiente desarrollo de presión arterial causado por ésta. Atchley y cols. en 1933 y Miller y cols. en 1954 observaron una respuesta antinatriurética tras la administración de insulina en humanos. Este, parece ser un efecto directo de la insulina. DeFronzo y cols. en 1976 asociaron el hiperinsulinismo con la retención renal de sodio, pudiendo ésta contribuir al desarrollo de la hipertensión. Estos autores realizaron unos estudios, empleando la técnica de micropunción en perros, que demuestran que la insulina tiene un efecto directo sobre la estimulación de la reabsorción de sodio a nivel del túbulo distal, mientras que ésta se reducía a nivel del túbulo proximal. Este efecto de la insulina daba lugar a la reducción de la excreción urinaria de sodio en estos animales. Sin embargo, Baum en 1987 observó que la insulina actuando a nivel del túbulo proximal en conejos, incrementaba la reabsorción de sodio, produciendo una disminución en la diuresis. Estos datos apoyarían el hecho de que la hiperinsulinemia produce un incremento en la presión arterial. Este efecto de la insulina sobre la disminución de la excreción renal de sodio, en caso de ser mantenido crónicamente, podría incrementar la presión arterial a través de la retención de sodio y la expansión de volumen extracelular. Esta respuesta a la hiperinsulinemia, está basada en los resultados de infusiones agudas de insulina. La

hipótesis, establece una atractiva explicación acerca del nexo de unión entre la insulina y la presión arterial, pero aún no está aclarado el hecho de que el efecto antinatriurético de la insulina sea suficiente para elevar la presión arterial crónicamente (Hall y cols, 1992). Por otro lado, Finch y cols en 1990 observaron que el efecto antinatriurético de la insulina se atenuaba en ratas en las que existía resistencia a la insulina asociada a hipertensión. En nuestros experimentos, la función excretora renal, evaluada tras cuatro semanas de alimentación con fructosa, no mostró cambios significativos en la excreción urinaria de sodio. Por tanto, nuestros resultados estarían de acuerdo en que el hiperinsulinismo crónico no da lugar a una retención de sodio a largo plazo ó, de acuerdo con los resultados de Finch, que la resistencia a la insulina desarrollada en nuestros animales eliminase el posible efecto antinatriurético de la insulina. Es importante destacar que Navarro y cols., en 1992 observaron valores incrementados de presión arterial así como un balance de sodio positivo en ratas durante la primera semana de alimentación con la dieta de fructosa. Dicho balance, se normalizó durante la segunda semana de alimentación con esta dieta. Martínez y cols. en 1994 observaron una ligera retención de sodio en perros alimentados con fructosa durante los primeros 8 días con esta dieta, que retornó a valores normales en los días sucesivos. Una posible explicación para estos resultados es que esta acumulación de sodio inicial sea compensada mediante el mecanismo de presión natriuresis capaz de prevenir una retención de sodio mantenida junto a una retención de volumen. De hecho, Hwang y cols. en 1989 observaron una reducción en los niveles plasmáticos de aldosterona en ratas alimentadas con fructosa. Estos resultados sugieren, que la alimentación con fructosa podría producir una moderada y transitoria retención de sodio que se traduce como una disminución de los valores de la excreción renal de sodio, dicha retención, probablemente, contribuiría al desarrollo de presión arterial. Sin embargo, es probable que tras la primera semana de alimentación con fructosa esta retención renal de sodio desapareciera, manteniéndose incrementados los valores de presión arterial, esto sugiere que aunque la retención renal de sodio pudiese participar en el desarrollo de este tipo de hipertensión, no es un factor determinante en el mantenimiento de ésta. No podemos descartar en nuestro estudio, una posible retención de sodio, en un primer estadio, que contribuyera al desarrollo de la hipertensión observada tras la cuarta semana de alimentación

con fructosa, aunque en experimentos previos en los que los animales fueros alimentados con fructosa durante dos semanas tampoco se observó retención de sodio.

En el presente estudio tampoco se observaron modificaciones en el volumen urinario ni en el aclaramiento de creatinina, lo que sugiere que la hipertensión observada no ha dañado la función renal. En contraste con nuestros resultados, Park en 1992 observó un ligero daño renal en ratas alimentadas con fructosa durante doce meses. Este daño iba acompañado de un incremento, aunque no significativo, en la excreción de albúmina. El hecho de que en el presente estudio no se observen modificaciones en la función renal tras cuatro semanas de administración de la dieta de fructosa, sugiere que, probablemente, sea necesario un periodo más largo de evolución de hipertensión mediada por la alimentación con una dieta rica en fructosa para que se desarrolle daño renal en este modelo experimental.

El presente estudio muestra que la alimentación con fructosa produjo un decremento en la excreción urinaria de potasio. La insulina se encuentra también implicada en el metabolismo del potasio. Se ha demostrado que la infusión de insulina en el hombre, con mantenimiento de la glicemia, produce una disminución de la concentración plasmática de potasio, dependiente de la dosis (DeFronzo y cols., 1980). La insulina estimula la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ de forma que se produce una entrada masiva de potasio desde el exterior al interior celular, disminuyendo los niveles plasmáticos de este cofactor. Este control que ejerce la insulina sobre la concentración plasmática de potasio se relaciona con el control que ejerce sobre la excreción urinaria de potasio. A pesar de que este parámetro se encuentra regulado por otros muchos factores (aldosterona, ingesta de sodio) uno de los factores más importantes que determinan los niveles plasmáticos de potasio es, en sí misma, la propia concentración de este ion. Ferrannini y cols. en 1994 observaron que tras una sobrecarga oral de glucosa en pacientes con diabetes mellitus se producía hipokalemia asociada a un decremento en la excreción urinaria de potasio. Sin embargo, cuando esta hipokalemia inducida por insulina se prevenía mediante una infusión exógena de potasio no se observaba disminución en la excreción urinaria de potasio, es decir, cuando la concentración plasmática de potasio era mantenida en unos niveles fisiológicos adecuados no se observaba el decremento en la excreción urinaria de potasio. Por tanto, la

hipokalemia parece ser el principal mecanismo a través del cual la insulina disminuye la excreción urinaria de potasio.

En resumen, las alteraciones presoras y metabólicas observadas en nuestro estudio no parecen alterar la función excretora renal, aunque no podemos descartar la posibilidad de que exista una ligera retención de sodio al comienzo de la evolución de la hipertensión en nuestro modelo experimental.

Efecto del tratamiento antihipertensivo sobre la función renal

El tratamiento con losartan no modificó la función renal tanto en los animales control como en los animales alimentados con la dieta de fructosa. Es un hecho conocido que la AII participa en la hemodinámica renal, regulando el transporte de sodio y agua a nivel del túbulo proximal (Cogan, 1990). Asimismo, Muñoz-García y cols. en 1995 observaron que la administración aguda de losartan en la SHR incrementaba la tasa de filtración glomerular, el flujo sanguíneo renal y la excreción urinaria de sodio. Sin embargo, Cachofeiro y cols. en 1995 observaron que la administración oral de losartan en la SHR no producía modificaciones en la función renal. Estos autores, así como los resultados del presente trabajo, muestran que la administración crónica de losartan no ejerce efectos sobre la función renal.

El tratamiento de quinapril, no modificó la función renal en los animales que recibieron la dieta de fructosa. Sin embargo, este tratamiento produjo un incremento tanto en el volumen urinario como en el volumen de ingesta de agua de los animales alimentados con la dieta control. Es probable que la dieta de fructosa impida, de alguna manera, las propiedades diuréticas de quinapril. El incremento de los parámetros modificados en los animales alimentados con la dieta control, no se asoció con un incremento en la excreción urinaria de sodio. Los inhibidores de la ECA tienen propiedades diuréticas y natriuréticas como consecuencia de sus acciones sobre la función glomerular y tubular (Romero y cols., 1988). Nuestros resultados confirman este hecho ya que la administración de quinapril incrementó el volumen urinario, aunque no se observaron modificaciones en la excreción de electrolitos.

Nuestros datos están de acuerdo con estudios previos en ratas normotensas (Lahera y cols., 1989) y SHR (Cachofeiro y cols., 1995) en las que la administración de un inhibidor de la ECA indujo un aumento del volumen urinario sin modificaciones en la excreción de sodio. Por el contrario, la administración de una infusión medular renal de captopril (Lu y cols., 1994) o de una infusión intravenosa sistémica (Mattson y Roman, 1991) produjo un incremento tanto del volumen urinario como de la excreción urinaria de sodio en las SHR y en las ratas Wistar Munich, respectivamente. Estas discrepancias, podrían ser debidas a las diferentes condiciones experimentales y/o al distinto comportamiento de estos fármacos durante el tratamiento a largo o corto plazo. También se observó un incremento en la ingesta acuosa en los animales control que recibieron el tratamiento de quinapril. Este hecho, podría indicar que el efecto diurético inducido por quinapril fuese consecuencia de un incremento en la ingesta de agua. Sin embargo, dado que la A II tiene un efecto dipsogénico, es difícil justificar la posibilidad de que quinapril pudiese estimular la ingesta acuosa. De hecho, estudios previos han demostrado que quinapril no modifica la ingesta de agua en ratas con reducción de la masa renal (Geiger y cols., 1993). Estos datos sugieren que quinapril indujo un incremento en el volumen urinario y como consecuencia de ello se produjo un incremento en la ingesta acuosa.

Dado que nuestros resultados muestran un incremento del volumen urinario sin producirse modificaciones en la excreción urinaria de sodio, parece lógico pensar que la ADH se encuentre implicada en este proceso. Es un hecho conocido que la AII estimula la secreción de ADH (Phillips, 1996) y que el tratamiento con quinapril reduce la formación de AII, por lo tanto el incremento en el volumen urinario producido por quinapril podría ser debido a una disminución en la secreción de ADH.

El tratamiento con diltiazem disminuyó el volumen urinario y el volumen de ingesta de agua en los animales alimentados con la dieta de fructosa. Esta modificación no se asoció a cambios en la excreción urinaria de sodio. Sin embargo, en los animales alimentados con la dieta control, la administración de diltiazem no modificó ninguno de estos parámetros. Por tanto, es posible que la dieta de fructosa junto con la administración de diltiazem pudiera, de

alguna forma, predisponer a los animales a reducir su ingesta de agua lo que conllevaría a una reducción del volumen urinario.

5.3.- METABOLISMO LIPÍDICO

La insulina tiene efectos sobre el músculo liso vascular favoreciendo el desarrollo de lesiones ateroscleróticas (DeFronzo, Ferrannini, 1991). Diversos estudios *in vitro* han demostrado que la insulina es capaz de estimular la proliferación del músculo liso vascular (Scout 1979). Este efecto podría ser el primer paso en el desarrollo de la placa aterosclerótica. A su vez, la insulina estimula la síntesis de colesterol, mediante la activación de la HMG CoA reductasa que es el paso limitante en la síntesis de colesterol (Simonson, 1988). Los efectos de la hiperinsulinemia sobre las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos están implicados en el desarrollo de la aterosclerosis así como en el riesgo de enfermedades coronarias, aunque su papel sobre la alteración y función en la vasculatura y en el desarrollo de la hipertensión no está totalmente aclarado.

En el presente trabajo, la alimentación con fructosa produjo un incremento significativo en los niveles plasmáticos de triglicéridos respecto del grupo control. Mientras que, los niveles plasmáticos de colesterol total no presentaron diferencias significativas entre estos dos grupos de animales. Sin embargo, es un hecho conocido que los pacientes diabéticos tipo II presentan una disminución en los niveles plasmáticos de colesterol HDL, así como un incremento en los de colesterol LDL. Por otro lado, la alimentación con una dieta rica en hidratos de carbono da lugar al incremento de la concentración de triglicéridos endógenos en humanos (Farquhar y cols., 1966). La dieta de fructosa o sacarosa produce un incremento en la concentración plasmática de triglicéridos asociado a un incremento en los niveles plasmáticos de insulina en ratas (Sleder y cols., 1980). Como se ha comentado anteriormente parece existir una relación entre la resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hipertensión, a su vez, la hipertrigliceridemia también aparece unida a estas alteraciones en pacientes y en animales de experimentación.

La posible relación entre la hipertrigliceridemia y la resistencia a la insulina continúa siendo desconocida. Sleder y cols. en 1980 demostraron que tanto la alimentación con glucosa como con fructosa da lugar a un incremento de lipoproteínas hepáticas de muy baja densidad (VLDL) así como al aumento en la síntesis y liberación de triglicéridos. Sin embargo, la eliminación de triglicéridos del plasma resulta insuficiente en la rata alimentada con fructosa y no con glucosa. Esta diferencia puede deberse al hecho de que la fructosa no es capaz de incrementar la lipasa lipoprotéica, que participa en la degradación de triglicéridos, mientras que la glucosa sí puede (Waddell y cols., 1973). Esta característica de la fructosa puede explicar la elevada concentración de triglicéridos plasmáticos que se observan en los animales alimentados con fructosa. Consecuentemente se puede postular que no todas las alteraciones metabólicas observadas en este modelo experimental se desarrollan simultáneamente o son debidas a los mismos mecanismos.

A menudo las alteraciones en el metabolismo lipoprotéico van ligadas a elevados niveles de presión arterial en humanos (McMahon y cols., 1985), siendo la elevada concentración de triglicéridos plasmáticos la principal alteración que se encuentra en estos pacientes. Reaven en 1967 y Tobey en 1981 sugirieron que la hipertrigliceridemia es secundaria a la resistencia a la insulina y a la hiperinsulinemia ya que encontraron tanto en sujetos normales como en pacientes con hipertrigliceridemia una correlación significativa entre resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, incremento en la tasa de secreción de VLDL e hipertrigliceridemia. Existen experimentos que confirman esta hipótesis en ratas con hipertrigliceridemia inducida por una dieta de hidratos de carbono (Zavaroni 1980, 1981, Sleder 1980). Además, cuando la captación de glucosa inducida por insulina es incrementada, bien por disminución de peso en humanos (Olefsky y cols., 1974) bien por un aumento de actividad física en ratas (Reaven 1988b), los niveles de insulina y triglicéridos plasmáticos disminuyen. A través de experimentos en hígado perfundido de rata, Reaven y cols. en 1984 demostraron que la secreción de triglicéridos hepáticos (VLDL) está directamente relacionada con la concentración de insulina plasmática, apoyando la hipótesis de que la hipertrigliceridemia es secundaria a la hiperinsulinemia y a la resistencia a la insulina. Contrariamente, en un experimento realizado en perros alimentados con fructosa se observó

que la hipertrigliceridemia precedía tanto a la hiperinsulinemia como a la hipertensión (Martínez y cols., 1994). En un experimento realizado en pacientes a los que se les administró una dieta rica en hidratos de carbono y que presentaron elevadas concentraciones de insulina y triglicéridos plasmáticos se observó que cuando se cambia su dieta por otra pobre en hidratos de carbono, los niveles de insulina incrementados retornaban a valores normales antes de que disminuyeran los niveles elevados de triglicéridos (Farquhar y cols., 1966). Este hecho parece indicar que la hipertrigliceridemia es más permanente que el resto de alteraciones metabólicas ocasionadas por este tipo de dieta.

Reaven y cols. en 1989 b y Hwang y cols, han sugerido que la hiperinsulinemia juega un papel central en el desarrollo de la hipertrigliceridemia inducida por la administración de hidratos de carbono en la dieta, ya que la administración de somatostatina a ratas alimentadas con fructosa atenúa los niveles plasmáticos de triglicéridos incrementados en estos animales (Zavaroni y cols., 1981). En contra de estos resultados, en humanos con hiperinsulinismo secundario producido por un adenoma, los triglicéridos plasmáticos no se encuentran incrementados (Tsutsu y cols., 1990). Respecto a la posible relación de la hipertrigliceridemia con el SNS, Hwang y cols. en 1987 observaron que la hipertrigliceridemia que aparecía en ratas Sprague-Dawley tras dos semanas de alimentación con fructosa no desaparecía tras la administración de clonidina a estos animales, sugiriendo que la hipertrigliceridemia no se relacionaba con un incremento en la actividad simpática.

Efectos del tratamiento antihipertensivo sobre el metabolismo lipídico

Como hemos comentado previamente, nuestros resultados muestran como los tratamientos con diltiazem, quinapril y losartan disminuyeron los valores incrementados de presión arterial, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina en las ratas alimentadas con la dieta de fructosa, sin embargo, no afectaron a los niveles elevados de triglicéridos plasmáticos que se observaron en estos animales. Asimismo, tampoco produjeron modificaciones en los niveles de colesterol plasmáticos. Como hemos citado ya en la presente discusión, numerosos autores han propuesto que tanto la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina como la

hipertrigliceridemia tienen un origen común en el modelo experimental de rata alimentada con azúcares (Reaven y cols., 1989 a, Tobey y cols., 1982, Reaven y cols, 1991 c. Sin embargo, dado que en el presente trabajo, los tres tratamientos antihipertensivos administrados sólo normalizaron los valores incrementados de la presión arterial, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia sin afectar a la hipertrigliceridemia que se observó en los animales alimentados con fructosa, nuestros resultados sugieren dos posibilidades: que sólo la elevación de la presión arterial, la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina parecen estar interrelacionadas en el presente modelo experimental o que la hipertrigliceridemia requiere un periodo de tiempo más largo para recuperarse.

Contrariamente a nuestros resultados, Erlich y Rosenthal en 1996 observaron que el tratamiento de enalapril en ratas alimentadas con fructosa durante tres semanas disminuyó los niveles incrementados de triglicéridos, además de reducir la presión arterial y la hiperinsulinemia. El cotratamiento con LNAME en estos animales bloqueó los efectos beneficiosos del enalapril, sugiriendo que dichos efectos pueden, en parte, atribuirse a la acción del NO que mediante cambios hemodinámicos podría también estar implicado en la actividad metabólica.

En resumen, nuestros resultados sugieren que aunque la hipertrigliceridemia parece estar relacionada con el resto de patologías que se observan en la rata alimentada con fructosa, probablemente su reducción requiere un periodo más largo de tratamiento con los fármacos antihipertensivos que el resto de las alteraciones metabólicas que se observan en éstos animales.

5.4.- SISTEMAS VASOACTIVOS

Otro posible mecanismo implicado en la hipertensión inducida por la alimentación con fructosa podría ser un aumento en la producción de los prostanoides vasoconstrictores, TXA₂ así como una disminución en la producción de prostanoides vasodilatadores, PGE₂ o PGI₂. Sin embargo, en el presente estudio no se observaron cambios en la excreción urinaria de PGE₂,

PGI₂ (medido como metabolito estable 6-ceto-PGE_{1α}) y TXA₂ (medido como metabolito estable TXB₂). Por esta razón la hipertensión observada no parece ser debida a un desequilibrio entre los prostanoïdes vasoconstrictores y los vasodilatadores. Sin embargo, es un hecho conocido que pacientes con DM tipo II presentan una alteración en la regulación del flujo sanguíneo al músculo esquelético que ha sido atribuida a un defecto en la liberación local de cininas y PGs (Kanz y cols., 1987). Axelrod en 1991 observó que elevadas concentraciones fisiológicas de insulina disminuían los niveles de PGE₂ y PGI₂ en el tejido adiposo de humanos. Este hecho sugiere que la hiperinsulinemia, mediante la inhibición de PGs vasodilatadoras, podría estar implicada en el aumento de las resistencias vasculares periféricas así como en la elevación de la presión arterial. El hecho de que en nuestros experimentos no observemos variaciones en la excreción de prostanoïdes vasoactivos, podría ser debido a que nos encontramos en un periodo primario del desarrollo de la hipertensión, por lo que no podemos descartar que en un estadio más avanzado, observásemos modificaciones en la excreción de dichos prostanoïdes.

La administración de la dieta de fructosa durante cuatro semanas no modificó la actividad de renina plasmática ni la concentración de aldosterona en plasma. Asimismo, Martínez y cols., en 1994 no observaron modificaciones en la actividad de renina plasmática en perros alimentados con fructosa. Sin embargo, Hwang y cols. en 1989 demostraron que la actividad de renina plasmática se incrementaba por la alimentación con fructosa en ratas, mientras que se producía una disminución en los niveles de aldosterona plasmáticos en estos animales. Igualmente, Affarah y cols. en 1986 observaron este parámetro disminuido en pacientes que recibieron una dieta rica en sacarosa. En oposición a estos resultados Rocchini y cols. en 1989 encontraron un progresivo incremento en aldosterona plasmática que fue paralelo a la retención de sodio en perros obesos alimentados con una dieta rica en grasas. Este incremento podría ser explicado por el hecho de que la insulina es capaz de incrementar la secreción de aldosterona estimulada por angiotensina (Vierhapper y cols., 1983). Sin embargo, en los animales alimentados con la dieta rica en fructosa del presente trabajo, que como ya hemos dicho anteriormente presentan hiperinsulinemia, no se observa un incremento semejante en los niveles de aldosterona plasmáticos.

Tampoco los niveles plasmáticos de noradrenalina, adrenalina y dopamina fueron modificados tras la alimentación con fructosa. De acuerdo con nuestros resultados, Kobayashi y cols. en 1993, tampoco encontraron modificaciones en la excreción urinaria de noradrenalina en ratas alimentadas con fructosa. Sin embargo, numerosos autores (Fournier y cols., 1986) han determinado que la alimentación con sacarosa incrementa la secreción de catecolaminas, ya que observaron un incremento en la excreción urinaria de éstas. Como ya comentamos en el primer apartado de la presente discusión, existen diferencias en el desarrollo de hipertensión inducido por fructosa y por sacarosa y una de estas diferencias puede ser debida a que la dieta de sacarosa da lugar al incremento de catecolaminas, mientras que la alimentación con fructosa no incrementa dicho parámetro. Por otro lado, Rowe y cols. en 1981 observaron que un incremento agudo de los niveles plasmáticos de insulina, mediante la aplicación de la técnica del clamp hiperinsulinémico en sujetos normales, estimulaba la secreción de catecolaminas. El empleo de dicha técnica para producir hiperinsulinemia supone unas condiciones experimentales distintas a las que se encuentran sometidas las ratas alimentadas con fructosa. Esta posibilidad explicaría las diferencias encontradas en cuanto a la secreción de catecolaminas.

La ET-1 plasmática tampoco se encontró modificada en los animales que recibieron la dieta de fructosa respecto de los que recibieron la dieta control. Asimismo Martínez y cols. en 1994 obtuvieron este mismo resultado en perros alimentados con fructosa. Sin embargo, ha sido demostrado en experimentos *in vitro* que la insulina incrementa la secreción de ET-1 del endotelio vascular (Hattori y cols., 1991). Asimismo, Takeda y cols. en 1991, observaron niveles plasmáticos de ET-1 incrementados en ratas diabéticas, sugiriendo que la insulina puede estimular la secreción de ET-1. Asimismo Takahashi y cols en 1990 hicieron esta misma observación en pacientes con diabetes mellitus. Hu y cols. en 1993 observaron que la insulina estimulaba la producción y la secreción de endotelina en células endoteliales bovinas. El incremento de esta sustancia podría estar implicada en la hipertensión observada en las ratas alimentadas con fructosa. Verma y cols. en 1995 observaron que el antagonista del receptor de endotelina, bosentan, era capaz de prevenir el aumento de presión arterial observado en las

ratas alimentadas con fructosa durante tres semanas, sugiriendo que la endotelina juega un importante papel en el desarrollo de la hipertensión en estos animales.

La alimentación con fructosa durante cuatro semanas tampoco modificó la excreción urinaria de nitritos, sugiriendo que este tipo de alimentación no afecta a la disponibilidad del NO, aunque hay que tener en cuenta que la excreción urinaria de nitritos es, tan sólo, una medida indirecta de este vasodilatador endotelial.

En experimentos previos, estudiamos la evolución de estos sistemas vasoactivos tras dos y diez semanas de alimentación con fructosa y tampoco se observaron modificaciones significativas en ninguno de ellos.

El hecho de que la alimentación con la dieta de fructosa durante cuatro semanas no produjera ninguna modificación en los sistemas vasoactivos que se analizaron en el presente trabajo sugiere que el aumento o disminución de su producción no se encuentra implicado en las alteraciones metabólicas así como en el incremento de la presión arterial que se observan en nuestro modelo experimental. Este fue el motivo de que estos parámetros no se estudiaran tras la administración de los tratamientos antihipertensivos con quinapril, diltiazem y losartan.

5.5.- REACTIVIDAD VASCULAR

Estos experimentos, se realizaron para comprobar si la alimentación con fructosa en ratas producía una mayor sensibilidad a factores constrictores y una menor sensibilidad a factores vasodilatadores, explicándose así el aumento de presión y las demás alteraciones observadas.

El presente estudio no muestra alteraciones en la respuesta contráctil a KCl tanto en lechos vasculares mesentéricos como en anillos de aorta en los animales alimentados con la dieta control o con la dieta de fructosa, lo que indica que dicha dieta no afecta al mecanismo intrínseco de contracción del músculo liso vascular.

La respuesta al vasoconstrictor AII se encontró incrementada en los anillos de aorta de los animales alimentados con fructosa respecto del grupo control, mientras que dicha respuesta no fue diferente en los lechos vasculares mesentéricos de ambos grupos de animales. Una mayor sensibilidad a este vasoconstrictor podría estar implicada en las alteraciones presoras y metabólicas que se observan en nuestro modelo experimental. Gaboury y cols. en 1994 demostraron que en sujetos hipertensos existía una correlación entre la respuesta presora a AII y la resistencia a la insulina y propusieron que un aumento en la respuesta presora a agentes vasoactivos en individuos con resistencia a la insulina contribuye al aumento de presión arterial. Hsueh y cols. en 1992 así como Lüscher y cols. en 1990 (a), propusieron que la hiperreactividad a factores vasoconstrictores y la disfunción endotelial contribuirían al desarrollo de hipertensión y/o resistencia a la insulina que se observa en ratas diabéticas así como en otros modelos experimentales. Existen discrepancias en cuanto a las respuestas vasculares a distintos vasoconstrictores según sea el tipo de territorio vascular estudiado. Christlieb y cols. en 1976; demostraron que los pacientes diabéticos presentaban una respuesta incrementada a los agentes vasoconstrictores. Asimismo, Drury y cols. en 1981 demostraron que la respuesta a AII se encontraba incrementada en pacientes con DM tipo 1. Sin embargo, McNally y cols en 1987, encontraron en este tipo de pacientes una respuesta a AII disminuida. Longhurst y Head en 1985 observaron que las respuestas a noradrenalina y al ion potasio, se encontraban atenuadas en los lechos vasculares mesentéricos de ratas diabéticas. Iyer y cols en 1996 observaron que ratas alimentadas con fructosa durante dos semanas presentaban una respuesta a AII incrementada en anillos de aorta, mientras que tanto las respuestas a fenilefrina como a acetilcolina, no se encontraban modificadas respecto a las del grupo control, sugiriendo que la hiperreactividad a AII es una de las primeras alteraciones vasculares que se producen en la rata alimentada con fructosa y que podría estar contribuyendo a la aparición del resto de las anormalidades observadas en este modelo.

Al estudiar la contracción al agonista α_1 , fenilefrina, así como al vasoconstrictor ET-1 no se observaron diferencias significativas en los dos territorios vasculares estudiados de ambos grupos de animales, sugiriendo que la dieta de fructosa no incrementa la sensibilidad a estos factores vasoconstrictores. El hecho de que no se observen modificaciones en la

respuesta a fenilefrina tras cuatro semanas de alimentación con la dieta de fructosa, podría indicar que posiblemente se requeriría un periodo más largo de alimentación con dicha dieta para que se observe un aumento de la sensibilidad a este agonista α -adrenérgico. A su vez, parece lógico pensar que la hiperreactividad a la AII existente podría contribuir a ello. Tal como sugirió MacLeod en 1985, las diferencias observadas en las respuestas a los distintos agentes vasoactivos, podrían ser debidas en parte a la duración del estado diabético del individuo así como a la preparación y tipo de lecho vascular estudiado.

La respuesta contráctil a fenilefrina tanto en presencia del inhibidor de la síntesis de NO, L-NAME, como en anillos de aorta sin endotelio presentó un incremento significativo respecto a la que se observó en ausencia de L-NAME y en los anillos con endotelio. Este incremento fue similar tanto en el grupo de animales alimentados con la dieta control como con la dieta de fructosa. Estos resultados sugieren la participación de los factores vasoactivos dependientes de endotelio, entre ellos el NO, en la respuesta a fenilefrina en los anillos aórticos de ratas Sprague-Dawley independientemente de la dieta administrada a los animales. Dohi y cols., en 1990 observaron como las respuestas contráctiles a noradrenalina y a fenilefrina en arterias mesentéricas de ratas Wistar-Kyoto se incrementaban significativamente tanto al añadir el inhibidor de la síntesis de NO, L-NMMA como tras la eliminación del endotelio de estos vasos. Asimismo, Thompson y cols., en 1993 encontraron este mismo incremento en la respuesta a noradrenalina tanto al eliminar el endotelio como al añadir L-NMMA en arterias carótidas de cobayas, sugiriendo la participación del NO y otros factores endoteliales en la atenuación de la respuesta contráctil a los agonistas α -adrenérgicos.

Asimismo, la relajación dependiente de endotelio a acetilcolina así como la relajación independiente de endotelio a nitroprusiato sódico tampoco mostraron modificaciones significativas en ambos grupos de animales tanto en lechos vasculares mesentéricos como en anillos de aorta. Estos resultados, junto con el hecho de que la respuesta a fenilefrina en presencia de L-NAME no mostró diferencias significativas entre ambos grupos de animales, sugieren que no existe una disminución en la producción de NO. Sin embargo Verma y cols. en 1996, observaron que en las arterias mesentéricas de ratas alimentadas con fructosa durante

tres semanas, se producía una disminución en la relajación a acetilcolina respecto del grupo de animales alimentados con la dieta control, sin modificarse la respuesta a nitroprusiato sódico. Estos autores sugieren que sus resultados pueden ser debidos a una disminución en la producción de NO así como a una exagerada producción de factores constrictores derivados del endotelio tales como ET-1 y PGH₂, basándose en que para mantener un tono normal en el músculo liso vascular es necesario la existencia de un equilibrio entre los factores relajantes y contráctiles derivados del endotelio. Es importante destacar que en las arterias mesentéricas el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (FHDE) es el principal factor responsable de la relajación dependiente de endotelio (Chen y cols., 1988), por tanto la disminución en la respuesta a acetilcolina en arteria mesentérica de ratas alimentadas con fructosa observada por Verma y cols., podría ser debida a la reducción del FHDE causada por dicha dieta. Asimismo, McVeigh y cols. en 1992 observaron una respuesta disminuida a acetilcolina en la arteria braquial de pacientes con DM tipo II. A su vez, estos autores sugieren una disminución en la producción y/o liberación de NO por parte de las células endoteliales de este tipo de pacientes. Dado que en nuestro estudio los dos territorios vasculares estudiados, los lechos vasculares mesentéricos y la aorta torácica, no muestran una disminución en la relajación a acetilcolina, se puede sugerir que en estos territorios vasculares el NO no se encuentra disminuido o bien que podrían existir otros factores vasodilatadores que compensaran la posible falta de NO. El hecho de que, como hemos comentado en el apartado anterior, la excreción urinaria de nitritos no se encuentra modificada en los animales alimentados con la dieta de fructosa respecto del grupo control apoya la idea de que el NO no se encuentra disminuido en estos animales. Tampoco podemos afirmar que un aumento en la producción de factores vasoconstrictores sea la causa de las alteraciones observadas ya que, como hemos comentado en el apartado de sistemas vasoactivos, en nuestro trabajo no encontramos modificaciones en la concentración de ET plasmática, asimismo, tampoco observamos un incremento en la respuesta a este vasoconstrictor en los dos territorios vasculares estudiados. El hecho de que no observemos modificaciones en ninguno de estos parámetros no descarta la posibilidad de que en un estadio más avanzado de resistencia a la insulina asociada a hipertensión inducida por la dieta de fructosa, se observase una respuesta vasodilatadora reducida en los dos territorios vasculares estudiados en éste trabajo, es decir, que existiese una menor producción y/o liberación de NO.

La insulina tiene propiedades vasodilatadoras cuando es infundida de manera aguda en un lecho vascular. Existen experimentos en los que se estudia el efecto agudo de la insulina sobre la reactividad vascular en animales y humanos infundiéndola en un determinado territorio vascular una concentración constante de insulina y produciendo así una hiperinsulinemia fisiológica y local. Estos estudios han demostrado que la insulina ejerce un efecto vasodilatador y además, atenúa la reactividad vascular a agentes vasoconstrictores. Steinberg y cols. en 1994 demostraron que el efecto vasodilatador de la insulina en el músculo esquelético era mediado por NO. Estos autores demostraron que la vasodilatación producida por la infusión de insulina en la arteria femoral de sujetos normales se atenúa cuando se infundía L-NAME conjuntamente. Asimismo, Scherrer y cols. en 1994 observaron que los efectos vasodilatadores ejercidos por la infusión de insulina en la arteria braquial de sujetos normales eran atenuados tras la infusión conjunta de L-NAME. Por otra parte, se ha sugerido que la insulina reduce la actividad contráctil a distintos agonistas vasoconstrictores, mediante la estimulación de NO que se opondría a la acción de dichos vasoconstrictores (Kaley y cols., 1992, Chen y cols., 1996). De esta forma, Alexander y cols. en 1977 demostraron que la insulina atenúa la respuesta vasoconstrictora a noradrenalina que se observaba en un lecho de resistencia como es la arteria caudal de la rata. Asimismo, Sakai y cols. en 1993, demostraron en arteria braquial humana que tras una infusión intra-arterial de insulina, que incrementaba localmente la concentración de insulina plasmática, las respuestas tanto a fenilefrina como a AII se encontraban atenuadas. Sin embargo, existen resultados opuestos, ya que Vierhapper y cols. en 1983 encontraron que la respuesta a AII no se mostraba alterada tras la infusión intravenosa de insulina en humanos.

También se han realizado este tipo de experimentos *in vitro*. McNally y cols en 1995 realizaron un estudio sobre arterias de resistencia humanas, concretamente, arterias aisladas, tomadas del tejido graso subcutáneo a las que se las incubó con insulina (1mU/ml), que es una dosis similar a la hiperinsulinemia fisiológica, y se estudió la respuesta a noradrenalina y a acetilcolina. El estudio demostró que la insulina atenúa la respuesta vasoconstrictora a noradrenalina, aunque no se modificó la respuesta a acetilcolina. Este hecho pone de manifiesto el efecto vasodilatador de la insulina. Aunque, existen resultados controvertidos,

como los de Townsend y cols. en 1992 que demostraron que la administración de insulina a unas concentraciones fisiológicas incrementa la respuesta presora a noradrenalina en la vasculatura mesentérica aislada de ratas normales.

En estos dos tipos de estudios *in vivo* o *in vitro* de infusión o administración de insulina, las condiciones de hiperinsulinemia que se obtienen son distintas a las de nuestro experimento, ya que se produce una hiperinsulinemia local y aguda, es decir, los vasos sanguíneos en los que se realizan las distintas pruebas a agentes vasoconstrictores y vasodilatadores están sometidos a una hiperinsulinemia que sólo permanece durante unas horas, es decir, mientras se realiza el experimento. En nuestro estudio, la alimentación con fructosa produce una hiperinsulinemia crónica y resistencia a la insulina que permanecen en el animal durante cuatro semanas. Asimismo, Lembo y cols. en 1995 observaron en ratas SHR, en las que existía resistencia a la insulina, que la infusión de insulina no disminuía la respuesta al vasoconstrictor noradrenalina, sugiriendo que la insulina no es capaz de ejercer su efecto vasodilatador en vasos en los que existe resistencia a la insulina. Steinberg y cols. en 1996 observaron que la capacidad de la insulina para liberar NO estaba disminuida en los pacientes obesos y en los pacientes con DM tipo II, es decir, en pacientes con resistencia a la insulina. Estos autores observaron que la respuesta dependiente de endotelio a metacolina no se incrementaba en estos pacientes tras la aplicación del clamp euglicémico-hiperinsulinémico, es decir, no se observan los efectos vasodilatadores de la insulina dependientes de NO.

Pieper y cols. en 1995 sugirieron que la hiperglicemia era la responsable de la respuesta empeorada a acetilcolina que observaron en ratas Sprague-Dawley a las que se les infundió glucosa de manera continua. Esta idea está de acuerdo con experimentos en ratas diabéticas que presentan hiperglicemia y muestran una respuesta empeorada a la relajación dependiente de endotelio (Cameron y cols., 1992, Kamata y cols., 1989). Otra explicación que podría unir la hiperglicemia con la disfunción endotelial es el hecho de que la exposición de las células endoteliales a altas concentraciones de glucosa da lugar a la producción de aniones superóxido que degradan el NO (Giugliano y cols., 1996). En caso de que esta hipótesis fuera cierta, es decir, la hiperglicemia fuera la causa de la disfunción endotelial, el hecho de que en nuestro

trabajo los animales alimentados con la dieta de fructosa no presenten hiperglicemia podría explicar porque no encontramos alteradas las respuestas vasorrelajantes.

En resumen, la respuesta incrementada a AII que se observa en la rata alimentada con fructosa apoya la idea de que una mayor sensibilidad a este vasoconstrictor sea la causa de las alteraciones que se observan en estos animales.

Efecto del tratamiento antihipertensivo sobre la reactividad vascular

La respuesta contráctil inducida por KCl tanto en lechos vasculares mesentéricos como en anillos de aorta de los animales control y de los animales alimentados con la dieta de fructosa no se vio modificada por ninguno de los tratamientos antihipertensivos utilizados en el presente experimento.

El tratamiento con losartan eliminó la respuesta constrictora a AII en lechos vasculares mesentéricos de ambos grupos de animales. Asimismo atenuó significativamente dicha respuesta, aunque sin eliminarla totalmente, en los anillos de aorta de los animales alimentados con la dieta de fructosa. De forma similar, el tratamiento crónico con losartan en la SHR durante doce semanas produjo una disminución significativa de la respuesta a AII (Rodrigo y cols., 1997). Estos resultados sugieren la posibilidad de una regulación a la baja o regulación negativa de los receptores AT_1 inducida por la administración de losartan. El hecho de que losartan actúe de diferente forma en los dos territorios vasculares estudiados puede ser debida a que su acción supresora sobre los receptores AT_1 sea más potente en los lechos vasculares mesentéricos que en los anillos de aorta.

El tratamiento con quinapril produjo un incremento en la respuesta a AII en los anillos de aorta de los animales control. Este hecho podría interpretarse como un mecanismo de regulación fisiológico para compensar la caída en los niveles de AII circulantes inducida por este inhibidor de la ECA que mediante el bloqueo continuado de la conversión de AI a AII, produciría un incremento en el número de receptores o en la afinidad a su ligando, AII, para

poder responder así más eficazmente ante la menor disponibilidad de AII. De esta forma, la adición exógena de este vasoconstrictor a los anillos de aorta da lugar a que se observe una respuesta exagerada a AII. Wilson y cols. en 1988 observaron que las respuestas vasculares renales a AII se presentaron incrementadas tras el tratamiento crónico con captopril de ratas SHR. Estos autores sugirieron la existencia de una mayor afinidad del receptor de angiotensina por la unión a su ligando. En el grupo de animales alimentados con la dieta de fructosa, que recibieron el tratamiento de quinapril, este mecanismo de regulación positiva no parece tener lugar ya que no fue capaz de incrementar, aún más, la respuesta a AII puesto que dicha respuesta ya se encontraba estimulada en este grupo de animales. Como se ha discutido en el presente trabajo, el tratamiento con quinapril normalizó los valores de presión arterial, así como mejoró la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia. El hecho de que la adición exógena de AII en los anillos de aorta presente una respuesta incrementada no significa que dicho tratamiento, al bloquear la ECA, no reduzca la síntesis de AII, produciéndose la mejora en la resistencia a la insulina y la disminución de los valores de presión arterial que se observan en los animales alimentados con la dieta de fructosa.

El tratamiento con diltiazem, también disminuyó la respuesta incrementada al vasoconstrictor AII en los anillos de aorta de las ratas alimentadas con fructosa. A su vez, el tratamiento con diltiazem también disminuyó la respuesta a AII en los lechos vasculares mesentéricos de los animales del grupo control. Este hecho, como se dijo en la página 146 de la presente discusión, puede ser debido a que los bloqueantes de los canales de calcio reducen la vasoconstricción mediada por AII (Millar 1983).

El tratamiento con losartan redujo la respuesta a fenilefrina en los lechos vasculares mesentéricos de ambos grupos de animales, sin modificar dicha respuesta en los anillos de aorta. Este resultado sugiere que en los lechos vasculares mesentéricos, al menos, parte de los efectos vasoconstrictores de las catecolaminas podrían estar mediadas por la AII. Qiu y cols en 1994, mostraron que losartan reducía la disminución en el diámetro y el flujo inducido por fenilefrina en arterias mesentéricas de ratas SHR y de ratas Wistar-Kyoto. Nuestros experimentos muestran que el tratamiento con diltiazem redujo la respuesta contráctil a

fenilefrina en los anillos de aorta del grupo de animales alimentados con la dieta control. Asimismo, en el grupo de animales alimentados con la dieta de fructosa que recibieron el tratamiento de diltiazem la respuesta a fenilefrina se mostró disminuída aunque no significativamente respecto del grupo de animales alimentados con fructosa que no recibieron este tratamiento. Wanstall y cols., en 1988 observaron que diltiazem disminuía la contracción máxima a noradrenalina en aorta de ratas Wistar. Estos resultados indican que la contracción a fenilefrina puede estar mediada, al menos en parte, por un incremento en la afluencia de calcio extracelular. Así, la reducción de la contracción a fenilefrina inducida por el bloqueante de los canales de calcio, diltiazem, se podría explicar por su capacidad de bloquear la entrada de calcio a las células del músculo liso vascular. El hecho de que diltiazem no produzca una disminución significativa en la respuesta a fenilefrina en el grupo de animales alimentados con la dieta de fructosa, puede ser debido a que dicha respuesta, en el grupo de animales alimentados con este tipo de dieta, se encontró ligeramente reducida respecto a la del grupo de animales control. Ninguno de los tres tratamientos antihipertensivos modificó el incremento observado en la respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta tratados con L-NAME o sin endotelio de ambos grupos de animales.

La respuesta contráctil a ET-1 se encontró significativamente disminuida en los lechos vasculares mesentéricos de los animales alimentados con la dieta control o fructosa que recibieron el tratamiento de losartan. Sin embargo, los tratamientos de quinapril o diltiazem no modificaron dicha respuesta. Asimismo, en los anillos de aorta de ambos grupos de animales, ninguno de los tratamientos produjo modificaciones en la respuesta al vasoconstrictor ET-1. Maeso y cols. en 1997 observaron que losartan atenuó la respuesta a ET-1 en anillos de aorta de SHR sugiriendo que la AII endógena participa en los efectos contráctiles de este vasoconstrictor dependiente de endotelio. El hecho de que en nuestros resultados losartan disminuya la respuesta a ET-1 y a fenilefrina, como explicamos anteriormente, en los lechos vasculares mesentéricos y no en los anillos de aorta de estos animales, podría deberse a que el lecho vascular mesentérico de estos animales es más sensible a la acción supresora de losartan sobre los AT_1 que los anillos de aorta.

Ninguno de los tres tratamientos modificó las respuestas vasorrelajantes tanto de acetilcolina como a nitroprusiato sódico en los dos tipos de territorios vasculares de ambos grupos de animales. Tal como explicamos en el apartado anterior, la alimentación con fructosa no modificó ninguna de estas respuestas, por tanto, parece lógico pensar que dichos tratamientos no produzcan modificaciones sobre la respuesta vasodilatadora, tanto en lechos vasculares mesentéricos como en anillos de aorta, cuando ésta no se encuentra alterada.

CONCLUSIONES

- 1.- La administración de una dieta rica en fructosa en ratas normotensas durante cuatro semanas reproduce experimentalmente la mayoría de las alteraciones (hipertensión leve, hiperinsulinismo, resistencia a la insulina e hipertrigliceridemia) observadas en el síndrome X metabólico humano.

- 2.- La administración de dicha dieta produce un incremento de la sensibilidad a la angiotensina II en vasos de conducción pero no en vasos de resistencia.

- 3.- La inhibición de la síntesis de la angiotensina II o de sus acciones previene el desarrollo de las alteraciones presoras, metabólicas (excepto la hipertrigliceridemia) y vasculares observadas en la rata alimentada con fructosa. Esto indica el importante papel que juega la angiotensina II en las alteraciones que presenta este modelo experimental.

- 4.- El aumento de calcio intracelular a través de los canales dependientes de voltaje tipo L parece ser el mecanismo que produce la mayoría de las alteraciones observadas en la rata alimentada con fructosa.

BIBLIOGRAFÍA

- Abboud FM. The sympathetic system in hypertension: state-of-the-art review. *Hypertension* 1989; 4(Suppl II): II-208-25.
- Affarah HB, Hall WD, Heymsfird SB, Kutner M, Wells JO, Tuttle EP. High-carbohydrate diet: antinatriuretic and blood pressure response in normal men. *Am J Nutri.* 1986; 44: 341-348.
- Airaksinen J, Lahtela JT, Ikaheimo MJ, Sotaniemi EA, Takkunen JT: Intravenous insulin has no effect on myocardial contractility on heart rate in healthy subjects. *Diabetologia* 1985;28:649-652.
- Alexander WD, Oake RJ. The effects of insulin on vascular reactivity to norepinephrine. *Diabetes* 1977; 26: 611-614.
- Andres R, Swerdloff R, Pozefsky T, Coleman D. Manual feedback technique for the control of blood glucose concentration. In Skeggs LT, de. *Autometion in analytical chemistry.* New York: Mediad, 1966: 486-491.
- Atcheley DW, Loeb RF, Richards DW, Benedict EM, Driscoll ME. On diabetic acidosis. *J Clin Invest* 1933; 12: 297-326.
- Aviv A, Livne A. The Na⁺/H⁺ antiport, cytosolic free Ca²⁺ and essential hypertension: A hypothesis. *Am J Hypertens* 1988;1:410-413.
- Axelrod L. Insulin, prostaglandins, and the pathogenesis of hypertension. *Diabetes* 1991 Oct; 40: 10:1223-1227.
- Baron AD, Brechtel-Hook G, Johnson A, Hardin D. Skeletal muscle blood flow: a possible link between insulin resistance and blood pressure. *Hypertension* 1993; 21: 129-135.
- Baskin DG, Figlewicz DP, Woods SC, Porte D Jr, Dorsa DM. Insulin in the brain. *Annu. Rev. Physiol.* 1987; 49: 335-347.
- Basnkota NK, Taub R, Zellner P, Olsen G, King L. Characterization of induction of protooncogene c-myc and cellular growth in human vascular smooth muscle cells by insulin and IGF-I. *Diabetes* 1989; 38: 123-129.
- Baum M. Insulin stimulates volume absorption in the rabbit proximal convoluted tubule. *J Clin Invest* 1987; 79:1104-1109.
- Baxter RC. The somatomedins: insulin-like growth factors. *Adv Clin Chem* 1988; 25: 49-115.
- Beck-Nielsen H, Pedersen O, Soresen NS. Effects of diet on the cellular insulin binding and the insulin sensitivity in young healthy subjects. *Diabetologia* 1978; 15: 289-296.

- Bell L, Madri JA. Effect of platelet factor on migration of cultured bovine aortic endothelial and smooth muscle cells. *Circ Res* 1989; 65: 1057-1065.
- Bergman RN. Towards physiological understanding of glucose tolerance: minimal-model approach. *Diabetes* 1990;1512-1533.
- Berne C, Pollare T, Fagius J. The sympathetic outflow in vasoconstrictor nerve fascicles is increased during euglycemic hyperinsulinemia. *Diabetologia*, 1989; 32: A536.
- Berne C, Pollare T, Lithell H. Effects of antihypertensive treatment of insulin sensitivity in special reference to ACE inhibitors. *Diabetes Care* 1991; 14(suppl 4):39-47.
- Bevan RD. Effect of sympathetic denervation on smooth muscle cell proliferation in the growing rabbit ear artery. *Circ Res* 1975; 37: 14-19.
- Bhanot S, McNeill JH, Bryer-Ash M. Vanadyl sulfate prevents fructose-induced hyperinsulinemia and hypertension in rats. *Hypertension* 1994;23:308-312.
- Bjorntorp P. The associations between obesity, adipose tissue and disease. *Acta Med Scand* 1988 (suppl 723): 121-134.
- Black HR. The coronary artery disease paradox: the role of hyperinsulinemia and insulin resistance: implications for therapy. *J. Cardiovascular Pharmacol.* 1990;15(suppl 5):26-39.
- Blaes N, Boissel JP. Growth-stimulating effect of catecholamines on rat aortic smooth muscle cells in culture. *J Cell Physiol* 1983; 116: 167-172.
- Blaustein MP. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension. A reassessment and a hypothesis. *Am J Physiol* 1977; 232: 5, C165-173
- Bloomgarden ZT, Ginsberg-Fellner F, Rayfield EJ et al. Elevated hemoglobin A1C and low density lipoprotein cholesterol levels in thiazide treated diabetic patients. *Am J Med* 1984; 77: 5, 823-827.
- Blumberg AL, Nishikawa K, Denny SE, Marshall GR, Needleman P. Angiotensin (AI, AII, AIII) receptor characterization. Correlation of prostaglandin release with peptide degradation. *Circ Res* 1977; 41:2, 154-158.
- Bönner G. Do kinins play a significant role in the antihypertensive and cardioprotective effects of angiotensin I-converting enzyme inhibitors?. *Laragh JH, Brenner BM (eds): Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management. New York, Raven Press, 1995, pp 2877-2893.*

- Boscaro M, Scaroni C, Edwards CR, Mantero F. Inhibitory effect of somatostatin on the aldosterone response to angiotensin II: In vitro studies. *J Endocrinol Invest*, 1982; 5:173-177.
- Brands MW, Hildebrandt DA, Mizelle HL, Hall JE. Sustained hyperinsulinemia increases arterial pressure in conscious rats. *Am J Physiol* 1991 a; 260: R764-R768.
- Brands MW, Mizelle HL, Gaillard CA, Hildebrandt DA, Hall JF. The hemodynamic response to chronic hyperinsulinemia in conscious dogs. *Am J Hypertens* 1991 b; 4:164-168.
- Brands MW, Hildebrandt DA, Mizelle HL, Hall JE. Hypertension during chronic hyperinsulinemia in rats is not salt-sensitive. *Hypertension* 1992; 19 (suppl Y): I-83-I-89.
- Brands MW, Garrity CA, Holman MG, et al. High-fructose diet does not raise 24-hour mean arterial pressure in rats. *Am J Physiol* 1994; 7:104-109.
- Braunwald E. Regulation of the circulation. *N Engl J Med* 1974; 290: 1124-29, 1420-25.
- Brayden JE, Halpern W, Brann LR. Biochemical and mechanical properties of resistance arteries from normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1983; 5:17-25.
- Brunzell JD, Porte D Jr, Bierman EL. Abnormal lipoprotein-lipase-mediated plasma triglyceride removal in untreated diabetes mellitus associated with hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 1979; 28: 901-907.
- Buchanan TA, Sipos GF, Gadalah S, Yip KP, Marsh DJ, Hsueh W, Bergman RN. Glucose tolerance and insulin action in rats with renovascular hypertension. *Hypertension* 1991; 18:341-347.
- Cachofeiro V, Maeso R, Rodrigo E, Navarro J, Ruilope LM, Lahera V. Nitric oxide and prostaglandines in the prolonged effects of losartan and ramipril in hypertension. *Hypertension* 1995; 26: 236-243.
- Cameron EN, Cotter MA. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rat: Role of polyol pathway. *Diabetologia* 1992; 35: 1011-1019.
- Canessa M, Adranga N, Solomon HD, Connolly TM, Tosteson DC. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1980; 302:772-776.
- Caretta R, Fabris B, Fischetti F, et al. Reduction of blood pressure in obese hyperinsulinemic hypertensive patients during somatostatin infusion. *J Hypertens* 1989; 7 (suppl 6):S196-S197.

- Caro JF, Dohm LG, Pories WJ, Sinha MK. Cellular alterations in liver, skeletal muscle and adipose tissue responsible for insulin resistance in obesity and type II diabetes. *Diab Metab Rev* 1989; 5: 665-689.
- Cavallero C, Di Tondo U, Mingazzini PL, Pesando PC, Spagnoli LG. Cell proliferation in the atherosclerotic lesions of cholesterolemia-fed rabbits: Part 2. Histological, ultrastructural, and radioautographic observations on epinephrine-treated rabbits. *Atherosclerosis* 1973; 17: 49-62.
- Cavero Y, Shepperton NB, Lefevre-Borg F et al. Differential inhibition of vascular smooth muscle responses to alpha-1 and alpha-2-adrenoceptor agonist by diltiazem and verapamil. *Circ Res* 1983; 52: 169-176.
- Chen G, Suzuki H, Weston AH. Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 1988; 95: 1165-1174.
- Chen S, Kashiwabara H, Kosegawa I, Ishii J, Katayama S. Bradykinin may not be involved in improvement of insulin resistance by angiotensin converting enzyme inhibitor. *Clin Exp Hypertens*, 1996 Jul, 18; 625-636.
- Chen YL, Messina E. Dilation of isolated skeletal muscle arterioles by insulin is endothelium dependent and nitric oxide mediated. *Am. J. Physiol* 1996; 270: H2120-H2124.
- Chiang BW, Perlman LV, Epstein FH. Overweight hypertension: A review. *Circulation* 1969; 39: 403-421.
- Christlieb AR, Janka H, Kraus B et al. Vascular reactivity to angiotensin II and to noradrenaline in diabetic subjects. *Diabetes* 1976; 25: 268-274
- Christlieb AR, Warram JH, Krolewski AS et al. Hypertension: The mayor risk factor in juvenile-onset insulin-dependent diabetics. *Diabetes* 1981; 30: 90-96.
- Cogan MG. Angiotensin II: a powerful controller of sodium transport in the early proximal tubule. *Hypertension* 1990; 15:451-458.
- Colombo L, Martinelli O. En Clinica para medicina general. Corazón, vasos e hipertensión. *Ed Masson* 1995.
- Conn JW. Hypertension, the potassium ion and impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 1965; 21: 1135-1143
- Crofton JT, Share L, Shade RE, Lee-Kwon WJ, Manning M, Sawyer WH. The importance of vasopressin in the development and maintenance of DOC-salt hypertension in the rat. *Hypertension* 1979; 1: 31-38.

- Cruz AB, Amatuzio DS, Grande F, Hay LJ. Effects of intraarterial insulin on tissue cholesterol and fatty acids in alloxan diabetics dogs. *Circ Res* 1961;9:39-43.
- De Meyts E, Kahn CR, Ginsberg BH, Roth J. The insulin receptor: greater evolutionary stability than insulin. *Diabetes* 1975; 24: 393.
- De Witt LM, Putney JW. Stimulation of glycogenolysis in hepatocytes by angiotensin II may involve both calcium release and calcium influx. *FEBS Lett* 1983; 160:253-259.
- DeFronzo RA, Goldberg M, Agus A. The effects of glucose and insulin on renal electrolyte transport. *J Clin Invest* 1976; 58:83-90.
- DeFronzo RA, Shervin RS, Dillingham M et al. Influence of basal insulin and glucagon secretion on potassium and sodium metabolism. *J Clin Invest* 1978; 61: 472-479.
- DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979; 6:E214-223.
- DeFronzo RA, Felig P, Ferrannini E, Wahren J. Effect of graded doses of insulin on splanchnic and peripheral potassium metabolism in man. *Am J Physiol* 1980; 238: E421-427.
- DeFronzo RA. The effect of insulin on renal sodium metabolism. A review with clinical implications. *Diabetologia* 1981; 21: 165-171.
- DeFronzo RA, Hendler R, Simonson D. Insulin resistance is a prominent feature on insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1982; 31: 795-801.
- DeFronzo RA. Lilly Lecture. The triumvirate: beta cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988;37:667-687
- DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance-a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*; 1991; 14: 174-194
- DeGroot LJ (ed): Endocrinology, 2nd Ed. Philadelphia. WB Saunders Co., 1989.
- Desnuelle C, Askanas V, Engel WK. Insulin enhances development of voltage-dependent calcium channels in aneurally cultured human muscle. *J Neurochem* 1987; 49: 1133-1138.
- Dietbert DC, Defronzo RA. Epinephrine-induced insulin resistance in man: a beta receptor mediated phenomenon. *J Clin Invest* 1980;65:712-721.
- Dohi Y, Thiel MA, Bühler FR, Lüsher TF. Activation of endothelial L-Arginine pathway in resistance arteries. *Hypertension* 1990; 15: 170-179.

- Draznin B: Cytosolic calcium and insulin resistance. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 32-38.
- Doniach D, Botazzo GF, Cudworth AG. Etiology of type I diabetes mellitus: heterogeneity and immunological events leading to clinical onset. *Annu. Rev. Med* 1983; 34: 13-20.
- Drury PL, Smith GM, Ferris JB. Increased vasopressor responsiveness to angiotensin II in type I (insulin-dependent) diabetic patients without complications. *Diabetologia* 1984; 27: 174-179.
- Dzau VJ, Sasamura H, Hein L. Heterogeneity of angiotensin synthetic pathways and receptors subtypes: physiological and pharmacological implications. *J Hypertens* 1993; 11 (suppl 3): S13.
- Dzau VJ, Pratt RE. En: Fozzard HA et al (eds) *The Heart and cardiovascular System*. Nueva York: Raven Press, 1986.
- Erlich Y, Rosenthal T. Contribution of nitric oxide to the beneficial effects of enalapril in the fructose-induced hyperinsulinemic rats. *Hypertension* 1996; 28:754-757.
- Erne P, Bolli P, Burgisser E, Buhler F. Correlation of platelet calcium with blood pressure: effect of antihypertensive therapy. *N Engl J Med* 1984;310:1084-1088.
- Fain JN. Insulin secretion and action. *Metabolism* 1984; 33:672-679.
- Farquhar JW, Frank A, Gross RC, Reaven GM, Brown Ep. Glucose, Insulin and triglyceride responses to high and low carbohydrate diets in man. *J Clin Invest* 1966;45: 1648-1656.
- Felig P. *Endocrinology and Metabolism*, 2nd Ed. New York, McGraw-Hill Book Co., 1987.
- Ferrannini E, DeFronzo RA. The association of hypertension, diabetes and obesity: a review. *J. Nephrol.* 1985;1:3-15.
- Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, Giorico MA, Oleggini M, Graziadei L, et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med* 1987;317:350-357.
- Ferrannini E, Taddei S, Santoro D et al. Independent stimulation of glucose metabolism and Na⁺-K⁺ exchange by insulin in the human forearm. *Am J Physiol* 1988;255:E953-F958.
- Ferrannini E. Insulin and blood pressure: possible role of hemodynamics. *Clin Exp Hypertens*, 1992; A14(1&2):271-284.
- Ferrannini E, Seghien G, Muscelli E. Insulin and the Renin Angiotensin Aldosterone system. Influence of ACE inhibition. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24 (suppl 3): S61-S69.

- Finch D, Davis G, Bower J, Kirchner K. Effect of insulin on renal sodium handling in hipertensive rats. *Hypertension* 1990; 15: 514-518.
- Fournier RD, Chieueh CC et al. Refined carbohydrate increases blood pressure and catecholamine secretion in SHR and WKY. *Am J Physiol* 1986; 250: E381-E385.
- Froesch ER. Concluding remarks: Symposium on clinical and metabolic aspects of fructose. *Acta Med Scan (suppl)* 1972; 542:239
- Fronek K, Bloor CM, Amiel D, Chvapil M. Effect of long-term sympathectomy on the arterial wall in rabbits and rats. *Exp Mol Pathol* 1978.
- Fuh MMT, Wayne HH, Sheu WH, Shen DC, Wu DA, Chen YD, Reaven GM. Metabolic effects of diuretic and β -blocker treatment of hypertension in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 1990; 3: 387-320.
- Gaboury CL, Karanja N, Holcomb SR, Torok J, MacCarron DA. Patterns of insulin secretion and responsiveness in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1991;4: 661-666.
- Gaboury CL, Simonson DC, Seely EW, et al. Relation of pressor responsiveness to angiotensin II and insulin resistance in hypertension. *J Clin Invest* 1994; 94: 2295-2300.
- Gambardella S, Frontoni S, Pellegrinotti M, Testa G, Spallone V, Mezinger G. Carbohydrate metabolism in hypertension: influence of treatment. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22 (suppl 6): S87-S97.
- Gans RO, Donker AJ. Insilin and blood pressure regulation. *J Intern Med.* 1991;229(suppl 5):26-39.
- Geiger H, Bahner U, Kraus I, Hoffman M, Palkovits M, Heidland A, Luft FC. Effect of ACE inhibitors on atrial natriuretic factor in the brains of rats with reduced renal mass. *Kidney Int* 1993; 44: 24-29.
- Gerich JE, Charle MA, Grodsky GM. Regulation of pancreatic insulin and glucagon secretion. *Annu Rev Physiol* 1976;38:353-388.
- Ginsberg HN. Very low density lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *Diabetes/Metab Rev* 1987; 2: 571-589.
- Giugliano D, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19(3): 257-267.

- Goodfriend TL. Physiological effects of angiotensins on the blood vessels and heart. *Zanchetti A, Tarazi RC, eds. Handbook of hypertension, Vol 8: Pathophysiology of Hypertension-Mechanism. New York, NY: Elsevier Science Publisher; 1986: 398-420.*
- Goren HJ. Insulin action and diabetes. *New York, Raven Press, 1988.*
- Griess P. Bemerkungen zu der Abhandlung der HM, Weselky und Benedikt Veber einige Azoverdungen. *Ber Deutsch Chem Ges 1879; 12: 426-429.*
- Gupta AK, Clark RV, Kircher KA. Effects of insulin on renal sodium excretion. *Hypertension 1992; 19(S1): 178-182.*
- Guyton AC. Circulatory Physiology III. Arterial pressure and hypertension. *Philadelphia: WB Saunders Co; 1980: 1-553.*
- Guyton AC, Coleman TG. Quantitative analysis of the pathophysiology of hypertension. *Circ Res 1969; 24 (Suppl. 1): 1-19.*
- Guyton AC, Coleman TG, Cowley AW Jr, Scheel KW, Manning RD Jr, Norman RA Jr. Arterial pressure regulation: overriding dominance of the kidneys in long-term regulation in hypertension. *Am J Med 1972; 52: 584-594.*
- Hadley ME. *Endocrinologia, 4ª Ed., Prentice Hall-Simon&Schuster International Group. Madrid, 1997.*
- Hall JE, Hall O. Comparative effectiveness of glucose and sucrose in enhancement of hyperalimentation and salt hypertension. *Proc Soc Exp Biol Med 1966; 123: 370-374.*
- Hall JF, Coleman TG, Mizelle HL, Smith MJ Jr. Chronic hyperinsulinemia and blood pressure regulation. *Am J Physiol 1990 a; 258:F722-F731*
- Hall JE, Brands MW, Kivlinghn SD, Mizelle HL, Hildebrandt DA, Gaillard CA. Chronic hyperinsulinemia and blood pressure: interactions with catecholamines?. *Hypertension 1990 b; 15: 519-527.*
- Hall JE, Brands MW, Hildebrandt DA, Mizelle HL. Obesity-associated hypertension: hyperinsulinemia and renal mechanisms. *Hypertension 1992; 19 (suppl I): 145-155.*
- Hallab M, Berrut G, Bouhanick B, Bled F, Suraniti S, Girault A, Fressinaud PH, Marre M. Elevated serum angiotensin I converting enzyme activity in type I insulin-dependent diabetic subjects with persistent microalbuminuria. *J Hypertens 1992; 10: 1296.*
- Hansen BC, Bodkin NL. Heterogeneity of insulin responses: Phases leading to Yype 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in the rhesus monkey. *Diabetologia 1986; 29: 713-719.*

- Hatton DC, Scrogin KE, Metz JA, McCarron DA. Dietary calcium alters blood pressure reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1989; 13: 622-629.
- Hattori Y, Kasai K, Nakamura T, Emoto T, Shimoda S-I. Effect of glucose and insulin immunoreactive endothelin-1 release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Metabolism* 1991; 40: 165-169.
- Heagerty AM: Angiotensin II: Vasoconstrictor or growth factor?. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1991; 18 (suppl 2): S14-S19.
- Hedeskov CJ. Mechanism of glucose-induced insulin secretion. *Physiol Rev* 1980; 60: 442-509.
- Hellerstrom C. The life story of the pancreatic β cell. *Diabetologia* 1984; 26: 393-400..
- Himsworth H. Diabetes mellitus: a differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. *Lancet* 1963; 1: 127-130.
- Henriksen EJ, Jacob S, Augustin HJ, Dietze GJ. Glucose transport activity in insulin-resistance rat muscle. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and bradykinin antagonism. *Diabetes*, 1996 Jan, 45 Suppl 1; S125-128.
- Hollenbeck CB, Chen N, YDI Chen, Reaven GM. Relationship between the plasma insulin response to oral glucose and insulin-stimulated glucose utilization in normal subjects. *Diabetes* 1984; 33: 460-463.
- Houston MC. The effects of antihypertensive drugs on glucose intolerance in hypertensive non-diabetics and diabetics. *Am Heart J* 1988; 115: 640-656.
- Howell SL, Tyhurst M. Insulin secretion: the effector system. *Experientia* 1984; 40: 1098-1105.
- Hsueh WA, Anderson PW. Hypertension, the endothelial cell, and the vascular complications of diabetes mellitus. *Hypertension* 1992; 20: 253-263.
- Hu RM, Levin ER, Pedram A, Frank HJ. Insulin stimulates production and secretion of endothelin from bovine endothelial cells. *Diabetes* 1993; 42: 351-358.
- Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*, 1987; 10: 512-516.
- Hwang IS, Huang WC, Wu JN, Shian LR, Reaven GM. Effect of fructose-induced hypertension on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic factor. *Am J Hypertens* 1989; 2: 424-427.

- Imura O, Shimamoto K, Matsuda K et al. Effects of angiotensin receptor antagonist and angiotensin converting enzyme inhibitor on insulin sensitivity in fructose-fed hypertensive rats and essential hypertensives. *Am J Hypertens* 1995; 8: 353-357.
- Israel KO, Michaelis OE, Reiser S. Serum uric acid, inorganic phosphorus and glutamic-oxalacetic transaminase and blood pressure in carbohydrate-sensitive adults consuming three different levels of sucrose. *Ann Nutr Metab.* 1983; 27: 425-435.
- Iyer SN, Katovich MJ. Effect of acute and chronic losartan treatment on glucose tolerance and insulin sensitivity in fructose-fed rats. *Am J Hypertens.* 1996 Jul 9(7). P 662-668.
- Izumi Y, Honda M, Tsuchiya M, Ueda Y, Hatano M. Effect of somatostatin on plasma renin activity and blood pressure in patients with essential hypertension. *Endocrinology* 1980; 27: 505-511.
- Jaiswal N, Diz DI, Chappel MC, Kosla MC, Ferrario CM. Stimulation of endothelial cell prostaglandin production by angiotensin peptides. *Hypertension* 1992; 19 (suppl II): II-49-II-55.
- Jaiswal N, Diz DI, Tallant EA, Khosla MC, Ferrario CM. The nonpeptide angiotensin II antagonist DuP 753 is a potent stimulus for prostacyclin synthesis. *Am J Hypertens* 1991; 4: 228-233
- Jauch KW, Hartl W, Guenther B, Wicklmayr M, Rett K, Dietze G. Captopril enhances insulin responsiveness of forearm muscle tissue in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1987; 17: 448-454.
- Johnson MD, Zhang HY, Kotchen TA. Sucrose does not raise blood pressure in rats maintained on a low salt intake. *Hypertension* 1993; 21: 779-785.
- Julius S, Gudbrandsson T, Jamenrson K, Shahab ST, Andersson O. The hemodynamic link between insulin resistance and hypertension. *J Hypertens* 1991,9:983-986.
- Kaiser N, Tur-Sinai A, Hasin M, Cerasi E. Binding, degradation and biological activity of insulin in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1985;249:E292-298.
- Kakar SS, Sellers JC, Devor DC, Musgrove LC, Neill JD. Angiotensin II receptor Type-1 cDNAs: differential tissue expression and hormonal regulation. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 183: 1090-1096.
- Kalant N, Osaki H, Mackubo B. Down regulation of insulin binding by human and rat hepatocytes in primary cultures. The possible role of insulin internalisation and degradation. *Endocrinology* 1984;114:37-43.

- Kaley G, Koller A, Rodenburg JM, Messina EJ, Wolin MS. Regulation of arteriolar tone and responses via L-arginine pathway in skeletal muscle. *Am. J. Physiol* 1992; 262 (*Heart Circ. Physiol.* 31): H987-H992.
- Kamata K, Miyata N, Kasuya Y. Impairment of endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in aorta from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 1989 ; 97: 614-618.
- Kanagy NL, Pawloski CM, Fink GD. Role of aldosterone and angiotensin II induced hypertension in rats. *Am J Physiol*, 1990; R102-109.
- Kanz M, McNeill G. Defective vasodilatation response to exercise in cutaneous precapillary vessels in diabetics humans. *Diabetes* 1987; 36: 1386-1396.
- Kaplan NM. Hipertensión primaria: patogenia, en Hipertensión clínica Ed., Kaplan Mk. *Editorial Médica Hispanoamericana*, 1991.
- Kaplan NM. Effects of antihypertensive therapy on insulin resistance. *Hypertension* 1992; 19 (*suppl 1*): 116-118.
- Kelly KL, Mato JM, Merida I, Jarett L. Glucose transport and antilipolysis are differentially regulated by the polar head group of an insulin glycopospholipid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6404-6407.
- Khairallah PA. Action of angiotensin on adrenergic nerve endings: inhibition of norepinephrine biosynthesis. *Fed Proc.* 1972; 31: 1351-1357.
- Kleinjans J, Kasbergen C, Vervoort-Peters L et al. Chronic intravenous infusion of noradrenaline produces labile hypertension in conscious rats. *Life Sci* 1981; 29: 509-514.
- Kneer NM, Lardy HA. Regulation of gluconeogenesis by norepinephrine, vasopressin and angiotensin II: a comparative study in the absence and presence of extracellular calcium. *Arch Biochem Biophys* 1983; 225: 187-195.
- Kobayashi R, Nagano M, Nakamura F et al. Role of angiotensin II in high fructose-induced ventricular hypertrophy in rats. *Hypertension* 1993; 21: 1051-1055.
- Kodama J, Katayama S, Tanaka K, Itabashi A, Kawazu S, Ishii J. Effect of captopril on glucose concentration: possible role of augmented postprandial forearm blood flow. *Diabetes Care* 1990; 13: 1109-1111.
- Kohno M, Yasumari K, Mukrakama KI, Yokokama K, Horio T, Fkui T, Takeda T. Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension. *Am J Med* 1990; 88: 614-618.
- Kost CK, Jackson EK. Enhanced renal angiotensin II subtype 1 receptor responses in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1993; 21: 420-431.

- Kotchen TA, Zhang HY, covelli M, Blehschmidt N. Insulin resistance and blood pressure in Dahl rats and in one-kidney, one-clip hypertensive rats. *Am J Physiol* 1991; 261: F692-F697.
- Krauss-Friedmann N. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis. *Physiol Rev* 1984; 64: 170.
- Kuriyama H, Uyshi I, Sueuk H, Kitamura A, Itoh T. Factors modifying contract-relation cycle in vascular smooth muscles. *Am J Physiol* 1982;243:H41-662.
- Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD. Decreased effect of insuline to stimulate skeletal muscle blood flow in obese man: a novel mechanism of insulin resistance. *J Clin Invest* 1990; 85: 1844-1852.
- Lahera V, Durán F, Cachofeiro V, Cañizo FJ, Cantón JJ, Rodriguez FJ, Treguerres JAF. Role of prostaglandins in the acction of ramipril (Hoe-495) in normotensives rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1989; 35: 25-30.
- Lahera V, Navarro-Cid J, Cachofeiro V, Garcia-Estañ J, Ruilope LM. Nitric oxide, the kidney and hypertension. *Am J Hypertens* 1997; 10: 129-140
- Lembo G, Iaccarino G, Vecchione C, Rendina V, Trimarco B. Insulin modulation of vascular reactivity is already impaired in prehypertensive spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1995; 26:290-293.
- Lenzen S, Bailey CJ. Thyroid hormones, gonadal and adrenocortical steroids and the function of islets of Langerhans. *Endocr Rev* 1984; 5: 411-434.
- Lever AF. Slow pressor mechanisms in hypertension: a role for hypertrophy of resistance vessels?. *J Hypertens* 1986;4:515-524.
- Levy J, Zemel MB, Sowers JR. Role of cellular calcium metabolism in abnormalities in glucose metabolism. *Am J Med* 1989; 87 (suppl 6A): 7-16.
- Lee RMKW, Triggle CR, Cheung DWT, Coughlin MD. Stuctural and functional consequence of neonatal sympathectomy on the boll vessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1987; 10: 328-338.
- Liang C-S, Doherty JU, Faillace R, et al. Insulin infusions in conscious dogs. Effects on systemic and coronary hemodynamic, regional blood flows and plasma catecholamines. *J Clin Invest* 1982; 69:1321-1336.
- Lind L, Lithell H. Hypertension, hyperlipidemia, insulin resistance and obesity: parts of a metabolic syndrome. *Blood Press Suppl*, 1992; 4: 49-54.

- Longhurst PA, Head RJ. Responses of the isolated perfused mesenteric vasculature from diabetic rats: the significance of appropriate control tissues. *J. Pharmac exp. Ther* 1985;235:45-49.
- Lu S, Mattson DL, Cowley AW. Renal medullary captopril delivery lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1994; 23: 337-345.
- Lucas CP, Estigarribia JA, Darga LL, Reaven GM. Insulin and blood pressure in obesity. *Hypertension* 1985; 7: 702-706.
- Lüscher TF, Aarhus LL, Vanhoutte PM. Indomethacin improves the impaired endothelium-dependent relaxations in small mesenteric arteries of the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 1990 (a); 3: 55-58.
- Lüscher TF, Bock HA, Yang Z, Diederich D. Endothelium-derived relaxing and contracting factors: perspectives in nephrology. *Kidney Int.* 1990 (b); 39: 575-590.
- Lüscher TF, Tanner FC, Dohi Y. Age, hypertension and hypercholesterolemia alter endothelium-dependent vascular regulation. *Pharmacol Toxicol* 1992; 70:S32-S39.
- MacLeod KM. The effects of insulin treatment changes in vascular reactivity in chronic, experimental diabetes. *Diabetes*, 1985; 34:1160.
- MacMahon SW, MacDonald GJ, Blacket RB. Plasma lipoprotein levels in treated and untreated hypertensive men and women. *Arteriosclerosis* 1985; 5: 391-396.
- Maeso R, Rodrigo E, Muñoz-García R, Navarro-Cid J, Ruilope LM, Lahera V, Cachofeiro V. Losartan reduces constrictor responses to endothelin-1 and the thromboxane A₂ analogue in aortic rings from spontaneously hypertensive rats: role of nitric oxide. *J Hypertens* 1997; 15: 1677-1684.
- Malaisse WJ. Coupling factors in nutrient-induced insulin release. *Experientia* 1984; 40: 1035-1043.
- Martínez FJ, Rizza RA, Romero JC. High-fructose feeding elicits insulin resistance, hyperinsulinism and hypertension in normal Mongrel dogs. *Hypertension*, 1994;23:456-463.
- Mattson DL, Roman RJ. Role of kinins and angiotensin II in the renal hemodynamic response to captopril. *Am J Physiol* 1991; 260: F670-F679.
- McNally PG, Lawrence IG, Watt PAC, Hillier C, Burden AC, Thurston H. The effect of insulin on the vascular reactivity of isolated resistance arteries taken from healthy volunteers. *Diabetologia* 1995; 38: 476-473.

- McNally PG, Watt PAC, Rimmer T, Burden AC, Hearnshaw JR, Thurston H. Impaired contraction and endothelium-dependent relaxation in isolated-resistance vessels from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Sci* 87: 31-36.
- McVeigh GE, Brennan GM, Johnson GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992;35: 771-776.
- Meisler MH, Howard G. Effects of insulin on gene transcription. *Annu. Rev. Physiol. Sci* 1989; 51:701-714.
- Millar JA, McLean KA, Reid JL. The effects of calcium antagonist nifedipine on pressor and aldosterone responses to angiotensin II in normal man. *Eur J Clin Pharmacol* 1983; 24: 315-321.
- Miller JH, Bodgonoff MD. Antidiuresis associated with administration of insulin. *J Appl Physiol* 1954; 6: 509-512.
- Modon CE, Dolkas CB, Reaven GM. Site of enhanced insulin sensitivity in exercise trained rats at rest. *Am J Physiol* 1980; 239 (Endocrinol Metab 2): E169-E177.
- Mueckler H. Family of glucose transporter genes. Implications for glucose homeostasis and diabetes. *Diabetes* 1990;39: 6-11.
- Mullane KM, Moncada S. Prostacyclin release and the modulation of some vasoactive hormones. *Prostaglandins* 1980; 20: 25-49.
- Mulvany MJ, Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiol Rev* 1990; 79: 921-961.
- Mulvany MJ, Hasen PK, Aalkjaer C. Direct evidence that the greater contractility of resistance vessels in spontaneously hypertensive rats is associated with a narrowed lumen, a thickened media, and an increased number of smooth muscle cell layers. *Circ Res* 1978;43:854-864.
- Muñoz-García R, Maeso R, Rodrigo E, Navarro J, Ruilope LM, Casal MC, Cachofeiro V, Lahera V. Acute renal excretory actions of losartan in spontaneously hypertensive rats: role of AT₂ receptors, prostaglandins, kinins and nitric oxide. *J. Hypertension* 1995;13: 1779-1784.
- Nasjletti A, Malik KU. Interrelations between prostaglandins and vasoconstrictor hormones: contribution to blood pressure regulation. *Fed Proc*, 1982; 41: 2394-2399.
- National Diabetes Data Group: Report of the expert committee on glycosylated hemoglobin. *Diabetes Care* 1984; 7: 602-606.

- Navarro J, Casal MC, Ruilope LM, Lahera V. Hipertensión inducida por fructosa: Efecto del Enalapril. *I Congreso Hispanoamericano de Nefrología 1992, Abstract 91. VOL XII, supl.2.*
- O'Dea K. Obesity and diabetes in "the land of milk and honey". *Diabetes/Metab. 1992; Rev.8:373-388*
- O'Hare JA, Ferriss JB, Twomeny BM, Gonggrijp H, O'Sullivan DJ. Changes in blood pressure, body fluids, circulating angiotensin II and aldosterone, with improved diabetic control. *Clin Sci 1982; 63: 415S-418S.*
- Olefsky JM, Reaven GM, Farguhar JW. Effects of weight reduction in obesity: study of carbohydrate and lipid metabolism. *J Clin Invest 1974; 53: 64-76.*
- Olefsky JM, Garvey WT, Henry RR, Brillon D, Matthei S, Freidenberg GR. Cellular Mechanisms of insulin resistance in non-insulin dependent diabetes. *Am J Med 1988; 85(suppl 5 A): 86-105.*
- Oonesen F, Sauter JF, Jeanrenaud B. Abnormal oral glucose tolerance in genetically obese (fa/fa) rats. *Am J Physiol. 1985; 248: E500-E506.*
- Os I, Kjeldsen SE, Westheim A, Lande K, Aakesson I, Frederichsen P, Leren P, Hjermann I, Eide IK. Increased plasma vasopressin in low renin essential hypertension. *Hypertension 1986; 8: 506-513.*
- Park CR. The action of insulin on the transport of glucose through the cell membrane. *Am J Med 1959; 26: 674.*
- Park SK, Meyer TW. The effects of fructose feeding on glomerular structure in the rat. *J. Am. Soc. Nephrol. 1992; 3:1330-1332.*
- Pershadsingh HA, McDonald JM. Direct addition of insulin inhibits a high affinity Ca^{2+} -ATPase in isolated adipocyte plasma membranes. *Nature 1979; 281 : 495-497.*
- Petersen OH, Findlay I. Electrophysiology of the pancreas. *Physiol Rev 1987; 67: 1054-1116.*
- Pfeille B, Ditschuneit H. Effects of insulin of the growth of cultural arterial smooth muscle cells. *Diabetologia 1981;20:155-158.*
- Phillips MI. Sistemas renina-angiotensina tisulares. *En Primer de Hipertensión. JL Izzo Jr y HR Black Editores. 1996: 18-20.*
- Pieper GM, Meier DA, Hager SR. Endothelial dysfunction in a model of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Am. J. Physiol. 1995; 269: H845-850.*

- Pollare T, Lithell H, Selinus I, Berne C. Application of prazosin is associated with an increase in insulin sensitivity in obese patients with hypertension. *Diabetologia* 1988; 31: 415-420.
- Pollare T, Lithell H, Berne C. A comparison of the effects of hydrochlorothiazide and captopril on glucose and lipid metabolism in patients with hypertension. *N Engl J Med* 1989 a; 321:868-873.
- Pollare T, Lithell H, Morlin C, Prantare H, Hvarfner A, Ljunghall S. Metabolic effects of diltiazem and atenolol: results from a randomized, doubled-blind study with parallel groups. *J Hypertens* 1989 b; 7:551-559.
- Pontrememali R, Rivera A, Canessa M. Insulin and cytosolic Ca²⁺ modulate the human red cell Na/H exchanger(abstract). *Clin Res* 1991; 39:192 A.
- Post RL. Regulation of glucose uptake in muscle III. The interaction of membrane transport and phosphorylation in the control of glucose uptake. *J Biol Chem* 1961; 236: 269.
- Qiu HY, Henrion D, Levy BI. Endogenous angiotensin II enhances phenylephrine-induced tone in hypertensive rats. *Hypertension* 1994; 24: 317-321.
- Rao RH. Effects of angiotensin II on insulin sensitivity and fasting glucose metabolism in rats. *Am J Hypertens* 1994; 7: 655-660.
- Reaven GM, Lerner RL, Stern MP, Farquhar JW. Role of insulin in endogenous hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1967; 46: 1756-1767.
- Reaven GM, Mondon CE. Effect of in vivo plasma insulin levels on the relationship between perfusate free fatty acid concentration and triglyceride secretion by perfused rat livers. *Horm Metab Res* 1984; 16 :230-232.
- Reaven GM, Reaven EP. Aging, glucose intolerance, and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Current Concepts. Upjohn, June 1986*.
- Reaven GM, Hoffman BB. A role for insulin in the aetiology and course of hypertension?. *Lancet* 1987; 435-436.
- Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988a; 37: 1595-1607
- Reaven GM, Ho Helen, Hoffmen BB. Attenuation of fructose-induced hypertension in rats by exercise training. *Hypertension* 1988b; 12, 129-132.
- Reaven GM, Chang H, Hoffman BB, Azhar S. Resistance to insulin stimulated glucose uptake in adipocytes isolated from SHR. *Diabetes* 1989 a: 38: 1155-1160.
- Reaven GM, Ho H, Hoffmann BB. Somatostatin inhibition of fructose induced-hypertension. *Hypertension* 1989 b; 14:117-120.

- Reaven GM, Chang H. Relationship between blood pressure, plasma insulin and triglyceride concentration, and insulin action in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1991 a; 4: 34-38.
- Reaven GM. Insulin resistance, hyperinsulinemia and hypertriglyceridemia in the etiology and clinical course of hypertension. *Am J Med*. 1991 b; (suppl 2):7-12.
- Reaven GM, Ho H. Sugar-induced hypertension in Sprague-Dawley rats. *Am J Hypertens*, 1991 c;4:610-614.
- Reaven GM, Twersky J, Chang H. Abnormalities of carbohydrate and lipid metabolism in Dahl rats. *Hypertension* 1991 d; 18: 630-635.
- Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities: the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N. Engl J Med* 1996; 8: 374-380.
- Resnick LM, Gupta RK, Laragh JH. Intracellular free magnesium in erythrocytes of essential hypertension: relation to blood pressure and serum divalent cations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:6511-6515.
- Resnick LM, Laragh JH, Sealey JE, Alderman MH. Divalent cations in essential hypertension. Relations between serum ionized calcium, magnesium and plasma renin activity. *N Engl J med* 1983; 309:888-891.
- Resnick LM. Calcium metabolism in hypertension and altered metabolic disorders. *Diabetes Care* 1991; 14: 505-520.
- Resnick LM. Hypertension and abnormal glucose homeostasis. Possible role of divalent ion metabolism. *Am J Med* 1987; 87(suppl 6 A): 17S-22S.
- Ringer S. A third contribution regarding the infusion of the inorganic constituents of the blood on the ventricular contraction. *J Physiol (Lond)* 1983;4:222-225.
- Robinson D, Nilsson C, Leonard R. Effects of loop diuretics on carbohydrate metabolism and electrolyte excretion. *J Clin Pharmacol* 1981; 21: 637-646.
- Rocchini AP, Moorehead CP, DeRener S, Bondie D. Pathogenesis of weight-related changes in blood pressure in dogs. *Hypertension* 1989; 3: 922-928.
- Rocchini AP, Moorehead CP, DeRener S, Goodfriend TL, Ball DL. Hyperinsulinemia and the aldosterone and pressor responses to angiotensin II. *Hypertension* 1990; 15 (part 2): 861-866.

- Rocchini AP, Moorehead CP, Wentz E, DeRemer S. Obesity-induced hypertension in the dog. *Hypertension* 1987; 9(suppl III): 64-68.
- Rodrigo E, Maeso R, Muñoz-García R, Navarro-Cid J, Ruilope LM, Cachofeiro V, Lahera V. Endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: consequences of chronic treatment with losartan or captopril. *J. Hypertens* 1997; 15: 613-618.
- Roman RJ, Cowley AW. Abnormal pressure-diuresis-natriuresis response in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1985; 248: F199-205.
- Roman RJ. Pressure diuresis mechanism in the control of renal function and arterial pressure. *Fed Proc* 1986; 45: 2878-2884.
- Romero JC, Knox FG. Mechanism underlying pressure-related natriuresis: The role of the renin-angiotensin and prostaglandin systems. *Hypertension* 1988; 11: 724-738.
- Rosenmann E, Teitelbaum A, Cohen AM. Nephropathy in sucrose-fed rats. Electron and light microscopic studies. *Diabetes* 1971; 20: 803-810.
- Ross R. The pathology of atherosclerosis-an update. *N Engl J Med* 1986; 314:488-500.
- Rowe JW, Tobin JD, Rosa RM, Andres R. Effects of experimental potassium deficiency on glucose and insulin metabolism. *Metabolism* 1980; 29: 498-502.
- Rowe JW, Yuong JB, Pallota JA, et al. Effect of insulin and glucose infusions on Sympathetic Nervous System activity in normal man. *Diabetes* 1981; 30: 219-225.
- Sakai K, Imaizumi T, Masaki H, Takeshita A. Intra-arterial infusion of insulin attenuates vasoreactivity in human forearm. *Hypertension* 1993; 22: 67-73.
- Salmon WD, Daughaday WH. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulphate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med* 1957; 49: 825-836.
- Saudek C, Boulter PR, Knopp RH, Arky RA. Sodium retention accompanying insulin treatment of diabetes mellitus. *Diabetes* 1974; 23:240-246.
- Scherrer U, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider Nicod P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J. Clin Invest*: 1994: 2511-2515.
- Schwartz JH, Young JB, Landsberg L. Effect of dietary fat on sympathetic nervous system activity in the rat. *J Clin Invest* 1983; 72: 361-370.
- Scout RW, Vallance-Owen J. Insulin and atheroma. *Lancet* 1969: 1078-1080.
- Scout RW. Diabetes and atherosclerosis- the role of insulin. *Diabetologia* 1979; 16: 141-150.

- Scout RW. Insulin as a mitogenic factor: role in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Am J Med* 1991;90:62S-65S.
- Sealey JE, Blumenfeld JD, Bell GM, Pecker MS, Sommers SC, Laragh JH. On the renal basis for essential hypertension: nephron heterogeneity with discordant renin secretion and sodium excretion causing a hypertensive vasoconstriction-volume relationship. *J Hypertens* 1988; 6: 763-777.
- Seifter JL, Aronson PS. Properties and physiologic roles of the plasma membrane sodium-hydrogen exchanger. *J Clin Invest*, 1986; 78: 859-864.
- Shimamoto K, Ura N, Nakagawa M, Higashiura K, et al. The mechanism of the improvement of insulin sensitivity by angiotensin converting enzyme inhibitor. *Clin Exp Hypertens*, 1996. Feb, 18;2:257-266.
- Simonson DC. Etiology and prevalence of hypertension in diabetic patients. *Diabetes Care* 1988; 11: 821-827.
- Sleder J, Chen YI, Cully MD, Reaven GM. Hyperinsulinemia in fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Metabolism*. 1980; 29:303-305.
- Smith D, DeFronzo RA. Insulin, glucagon and thyroid hormones. *En Renal Endocrinology*. Dunn MJ (e d), Willians and Wilkins. Baltimore, 1983.
- Sowers JR, Standley PR, Zemel PC. Calcium and hypertension. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 228-248.
- Standaert ML, Pollet RJ. Insulin-glycerolipid mediators and gene expression. *FASEB J* 1988; 2: 2453.
- Starke AR. Determination of insulin sensitivity: Methodological consideration. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20(suppl. 11): S17-S21.
- Stein R. Regulation of insulin gene transcription. *TEM* 1993; 4: 96-101.
- Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilatation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J. Clin. Invest* 1994; 94: 1172-1179.
- Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. *J. Clin. Invest* 1996; 97: 2601-2610.

- Sterzel RB, Helsemann JL, Mckenzie DE, Wilcox CS. Nitrendipine reverses vasoconstriction and renal hemodynamic changes in experimental hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6 (suppl 7): S1032-S1035.
- Szanto S, Yudkin J. The effect of dietary sucrose on blood lipids, serum insulin, platelet adhesiveness and body weight in human volunteers. *Postgrad Med J.* 1969; 45: 602-607.
- Takahashi K, Ghatei MA, Lam HC, O'Halloran DJ, Bloom SR. Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990.; 33: 306-310.
- Takeda Y, Miyamori I, Yoneda T, Takeda R. Production of endothelin-1 from mesenteric arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 1991; 48: 2253-2256.
- Tentoria A, Guilardi G, Pedroncelli A et al. Insulin secretion and glucose tolerance in non-insulin dependent diabetic patients after chronic nifedipine treatment. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 36:311-313.
- Thompson LP, Weiner CP. Endothelium-derived relaxing factor inhibits norepinephrine contraction of fetal guinea pig arteries. *Am. J. Physiol.* 264 1993 (Heart Circ. Physiol. 33): H1139-H1145.
- Tobey TA, Greenfield M, Kraemer F, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, insulin secretion, very low density lipoprotein kinetics and plasma triglyceride levels in normotriglyceridemic man. *Metabolism* 1981; 30: 165-171.
- Tobey TA, Mondon CE, Zavaroni I, Reaven GM. Mechanisms of insulin resistance in fructose-fed rats. *Metabolism.* 1982;31:608-612.
- Todd PA, Heel RC. Enalapril: a review of its pharmacokinetic properties and therapeutic use in hypertension and congestive heart failure. *Drugs* 1986; 31: 198-248.
- Townsend RR, Dippete DJ. Pressor doses of angiotensin II increase insulin-mediated glucose uptake in normotensive men. *Am. J. Physiol.* 1993; 265: E362-E366.
- Townsend RR, Yamamoto R, Nickols M, DiPette DJ, Nickols GA. Insulin enhances pressor responses to norepinephrine in rat mesenteric vasculature. *Hypertension* 1992; 19 [suppl II]: 105-110.
- Trost B, Weidmann P. Nitrendipine in patients with hypertension and diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 9 (suppl 4): S280-S285.
- Tsutsu N, Nuadi K, Kodoma T et al. Lack of association between blood pressure and insulin with patients with insulinoma. *J Hypertens* 1990; 8: 479-482.
- Ullrich A, Bell JR, Chen EY. Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes. *Nature* 1985, 313: 756-761.

- Unger RH, Grundy S. Hyperglucemia as an inducer as well as a consequence of impaired islet cell function and insulin resistance: implications for the management of diabetes. *Diabetologia* 1985; 28:119-121.
- Vallega GA, Canessa ML, Berk BC, Brock TA, Alexander RW. Vascular smooth muscle Na⁺-H⁺ exchanger kinetics and its activation by angiotensin II. *Am J Physiol* 1988; 254: 6 Pt 1: C751-758.1988
- Verma S, Bhanot S, Yao L, McNeill JH. Defective endothelium-dependent relaxation in fructose-hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1996; 9: 370-376.
- Virehapper H, Waldhausl W, Nowotny P. The effect of insulin on the rise in blood pressure and plasma aldosterone after angiotensin II in normal man. *Clin Sci* 1983; 64: 383-386.
- Waddell M, Fallon HJ. The effect of high carbohydrate diets on liver triglyceride formation in the rat. *J Clin Invest* 1973; 52: 2725-2731
- Wanstall JC, O'Donnell SR. Inhibition of norepinephrine contractions by diltiazem on aorta and pulmonary artery from young and aged rats: influence of alpha-adrenoceptor reserve. *J. Pharmacol and Exp. Therapeutics* 1988; 245: 1016-1021.
- Ward WK. Pathophysiology of insulin secretion in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1984; 7: 491-502.
- Weidman P, Beretta-Piccoli C, Trost BN: Pressor factors and responsiveness in hypertension accompanying diabetes mellitus. *Hypertension* 1985; 79 (suppl II): II-33-II-42.
- Williams GH. Converting-enzyme inhibitors in the treatment of hypertension. *N Engl J Med* 1988; 319: 1517-1525.
- Wilson KM, Magargal W, Berecek KH. Long-term Captopril treatment: Angiotensin II receptors and responses. *Hypertension* 1988; 11 No 2, Pt2, 1-148-1152.
- Wong PC, Price WA, Chiu AT, Duncia JV, Carini DJ, Wexler RR, Johnson AL, Timmermans PBMWM. In vivo pharmacology of DuP 753. *Am J Hypertens*, 1991; 4: 288S-298S.
- Yki-Jarvinen H, Taskinen VA, Koivisto VA, Nikkila EA. Response of adipose tissue lipoprotein lipase activity and serum lipoproteins to acute hyperinsulinaemia in man. *Diabetologia* 1984; 27: 364-369.
- Young JB, Ladsberg L. Impaired suppression of sympathetic activity during fasting the gold thioglucose treated mouse. *J Clin Invest* 1980; 65: 1086-1094.
- Young JB, Ladsberg L. Suppression of sympathetic nervous system during fasting. *Science* 1977; 196: 1473-1475.

- Young JB, Landsberg L. Effect of oral sucrose on blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Metabolism* 1981; 30: 421-424.
- Young JB, Rosa RM, Ladsberg L. Dissociation of sympathetic nervous system and adrenal medullary responses. *Am J Physiol* 1984; 247: E35-E40.
- Zavaroni I, Chen Y-DI, Mondon CE, Reavan GM. Ability of exercise to inhibit carbohydrate-induced hypertriglyceridemia in rats. *Metabolism* 1981; 30: 476-480.
- Zavaroni I, Sander S, Scott S et al. Effects of fructose feeding on insulin secretion and insulin action in the rat. *Metabolism* 1980; 29: 970-973.
- Ziel FH, Venkatesan N, Davidson MB. Glucose transport is rate-limiting of skeletal muscle glucose metabolism in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1988; 37: 885-890.