

11227  
201.43

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

S. S. A.



SECRETARIA DE SALUD  
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO  
DEPTO. DE INVESTIGACIONES  
MEXICO D.F.



## NIFEDIPINA-TOLBUTAMIDA-GLUCOSA: ESTUDIO PRELIMINAR

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALIZACION EN MEDICINA INTERNA  
PRESENTA EL DOCTOR:  
**LEOPOLDO NIETO CISNEROS**  
DIRIGIDA POR EL DOCTOR:  
**JORGE LOZANO FLORES**

Mexico, D. F.

1986

**TESIS CON  
FALLA DE CUBRIM**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	Pg.
I) INTRODUCCION	1
II) BIOSINTESIS DE INSULINA	2
III) LIBERACION Y EXCRECION DE INSULINA	5
IV) CINETICA BIFASICA DE LA LIBERACION DE INSULINA	7
V) EL CALCIO EN LA CELULA	8
VI) CANALES DEL CALCIO	11
VII) CALCIO E INSULINA	13
VIII) CALCIO Y LIBERACION DE HORMONAS	14
IX) MODELO PARA LA LIBERACION BIFASICA DE LA INSULINA	15
X) BLOQUEADORES DEL CALCIO	17
XI) NIFEDIPINA. CONSIDERACIONES FAR- MACOLOGICAS	20
XII) TOLBUTAMIDA	22
XIII) HIPOTESIS	23
XIV) MATERIAL Y METODOS	24
XV) RESULTADOS	25
XVI) DISCUSION	29
XVII) CONCLUSIONES	31
XVIII) BIBLIOGRAFIA	32

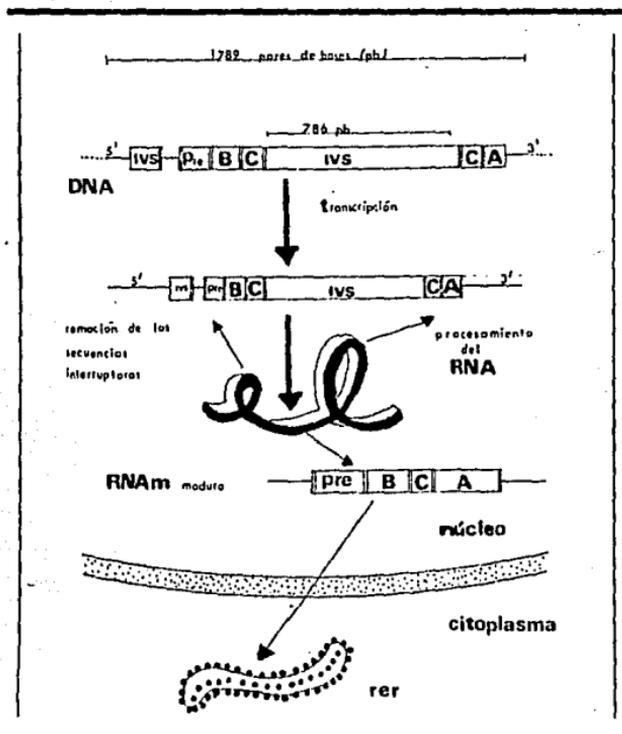
El metabolismo de los carbohidratos (HC) es un proceso complejo en el que intervienen múltiples factores reguladores. Al hablar del metabolismo de los HC es imperativo mencionar a la insulina, principal hormona reguladora, cuyo estímulo liberador más importante es la concentración sérica de glucosa (1).

El proceso de liberación de insulina ha sido estudiado ampliamente y se ha visto que depende de varios factores que a su vez pueden ser afectados por diversas condiciones. Recientes estudios demuestran la multiplicidad de éstos (2, 4), entre los que figuran algunos fármacos como diuréticos, agentes hormonales, tricíclicos, antihipertensivos, analgésicos y agentes antineoplásicos (2, 3). El efecto de estos medicamentos en la secreción de insulina se demuestra esencialmente en la curva de tolerancia a la glucosa (CTG) provocando un patrón de intolerancias.

Estudios recientes han propuesto la posibilidad de que un grupo nuevo de medicamentos con diversas aplicaciones, los bloqueadores de los canales de calcio, (CC), como Verapamil, Nifedipina, Flunarizina, Diltiazem y Nicardipina puedan inhibir, en diversos grados, la secreción de insulina (3). La base de estos estudios se encuentra en el hecho de la dependencia de la secreción de insulina del calcio (1, 4, 5) y del bloqueo del flujo celular que este ión sufre por acción de los fármacos mencionados.

De acuerdo a lo anterior en el presente trabajo trataremos de demostrar los efectos de la Nifedipina sobre la glucoemia de un grupo de animales de laboratorio ("canis vulgaris"), bajo la base de que el flujo de calcio necesario para la liberación de insulina, puede ser afectado por los CC. Los resultados podrán ser de trascendencia clínica si este hecho se demuestra y plantearía la necesidad de una línea de investigación en seres humanos sanos y portadores de diabetes mellitus (DM) no dependiente de insulina exógena.

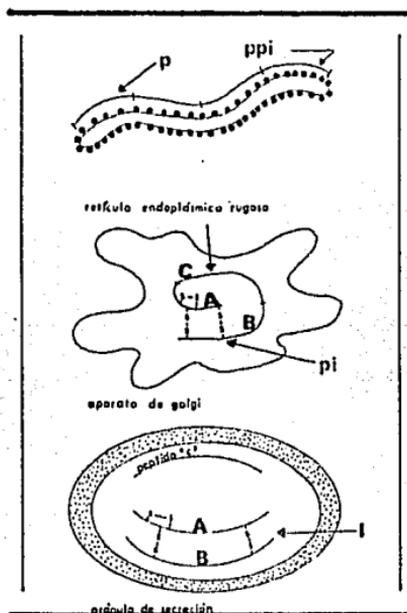
La insulina es una hormona peptídica producida en el retículo sarcoplásmico rugoso de las células beta pancreáticas. El gen de la insulina humana está localizado en el brazo corto del cromosoma 11 (6, 7, 8) y contiene 1789 pares de bases, considerándose un gen demasiado largo para la molécula que codifica. La producción de RNA<sub>m</sub> inducida por el gen (Fig. 1 y 2), hace que éste induzca la síntesis de un prepeptido de 24 aminoácidos denominado "preproinsulina". Este prepeptido contiene en su estructura las cadenas A y B de la insulina y el péptido C. En el aparato de Golgi intracelular, y en un proceso ATP-dependiente, la prohormona quedará compuesta solamente por las cadenas A y B y el péptido C denominándose "proinsulina" la cual será envuelta en gránulos secretorios con alto contenido de proteínas que separarán la cadena C de las A y B. Aún dentro de los gránulos, éstas últimas se dirigirán hacia la membrana celular, donde por exocitosis serán expulsadas la insulina y los péptidos restantes.



**FIGURA 1**

**PROCESO BIOSINTETICO DE LA PREPROINSULINA**

(Ver texto como referencia). **IVS**.- "intrones". **rer**.- "Reticulo Endoplásmico Rugoso. (Adaptado de: Robbins, D.C., Tager, H.C., Rubenstein, A.H., "Biologic and Clinical Importance of Proinsulin", N. Engl. J. Med. 310:1165, 1984).



**FIGURA 2.**

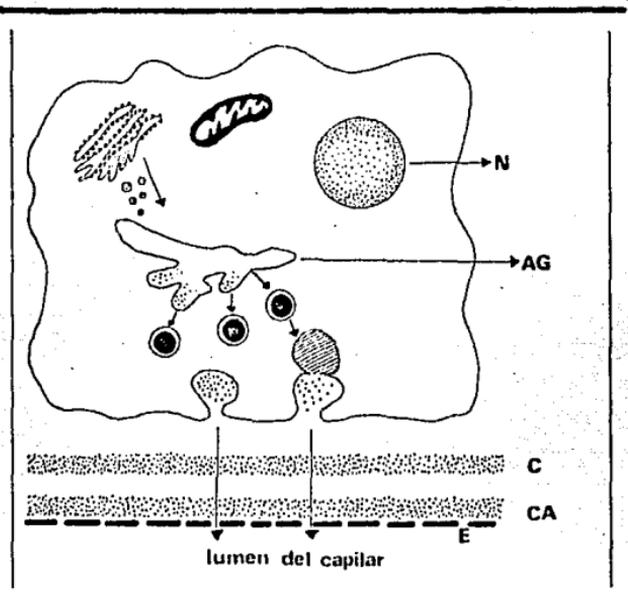
BIOSINTESIS DE LA INSULINA

La molécula de preproinsulina (ppi) es dividida por una proteasa (p) en el retículo endoplásmico rugoso. De ahí pasa como proinsulina (pi) al aparato de Golgi. En los gránulos secretorios formados se encuentran: la Insulina (I) y el péptido "C". (Adaptado de: Ganong, W.F., "Review of Medical Physiology" 11th, Ed., Lange Ed. pp.268, 1983).

La secreción de insulina está regulada por una gran variedad de factores tanto de tipo inhibitorio como excitatorio (1), y la secreción de un humano normal es de aproximadamente 40 U. por 24 horas. El factor secretor más importante es la glucosa (1), aunque aminoácidos y otros azúcares son capaces de estimular su secreción y biosíntesis. Esta secreción es regulada por un sistema de retroalimentación positiva entre la glucosa y la célula beta pancreática.

Cuando la administración de glucosa se lleva a cabo por vía oral, el estímulo para la secreción de insulina es mayor que el de la glucosa administrada por vía endovenosa (1, 9). Esto sugiere la posibilidad de que exista una señal previa del tracto gastrointestinal hacia el páncreas formando un eje entero-pancreático responsable de la utilización efectiva y controlada de los HC (9).

Además de la glucosa, otros factores pueden afectar la secreción de la insulina. Ramas del vago derecho inervan los islotes pancreáticos y su estimulación aumenta la secreción de insulina. La epinefrina y norepinefrina así como el ejercicio, hipoxia, hipotermia, cirugía y quemaduras graves, disminuyen la secreción de insulina a través de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos. Los factores que incrementan AMPc dentro la célula  $\beta$  como los agonistas  $\beta$  adrenérgicos estimulan la secreción de la hormona. También la tiroxina, hormona de crecimiento y glucocorticoides aumentan su secreción, mientras que la somatostatina y la prostaglandina E-1 la inhiben.



**FIGURA 3**

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA BIOSINTESIS Y LIBERACION DE INSULINA

( Ver texto como referencia ). N.- Núcleo, AG.- Aparato de Golgi, C.- Lámina basal de la célula B, CA.- Lámina basal del capilar, E.- Endotelio del capilar. ( Modificado de: Ganong,W.F., "Review of Medical Physiology" 11th.Ed. , Lange Editorial,pp.268, 1983 ).

Numerosos estudios realizados han demostrado que la liberación de insulina debida a la glucona tiene un patrón bifásico. Se presenta una liberación inicial que alcanza su pico en minutos y declina rápidamente. Esto es seguido por un pico más prolongado y de desarrollo más lento (1, 4, 9). Se han propuesto diversos mecanismos para explicar este fenómeno, entre ellos se postula que el pico inicial depende de la utilización del  $Ca^{++}$  intracelular y que el segundo pico depende de la utilización -- del  $Ca^{++}$  tanto extracelular como intracelular (1, 4). Esto será explicado con todo detalle más adelante (Fig. 6).

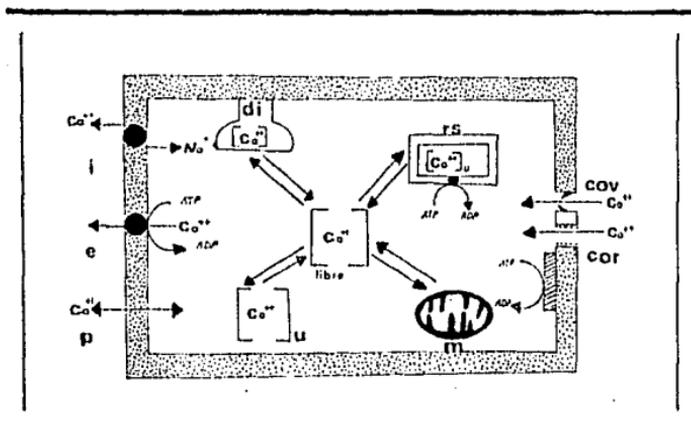
Una vez en sangre, la insulina se fija a receptores en diferentes células y por este medio, activa mecanismos que permiten la entrada de glucosa a los diferentes tejidos (10), llevándose a cabo el paso inicial del metabolismo de los carbohidratos.

Los iones de calcio juegan un papel esencial en varios procesos biológicos de tal forma que su importancia se puede considerar, igual, sino es que mayor, que la del AMPc.

La concentración de calcio en el líquido extracelular, es 10,000 veces mayor que en el citosol, debido a que en el reposo celular, la membrana es prácticamente impermeable a este ión. Las células eucariotes tienen diferentes compartimientos intracelulares del calcio, por lo que su función es controlar y modular la concentración intracelular de calcio libre. Esta concentración es de 0.1 micromoles en condiciones de reposo y el contenido total alcanza hasta 70-100 micromoles/litro (11, 12, 13).

Se conocen siete mecanismos básicos de regulación del calcio citoplásmico (Fig. 4):

1. Entrada por los canales lentos con gradiente de concentración -- (12, 14, 15).
2. Sistema de intercambio sodio/calcio.- La dirección del cambio depende de las concentraciones relativas del sodio y calcio intra y extracelular. El intercambio sodio/calcio puede favorecer la entrada de calcio cuando el sodio intracelular está elevado -- (4, 12).
3. ATPasa de Sarcolema (4, 14).- Esta enzima saca calcio de la célula.
4. ATPasa del Retículo Sarcoplásmico.- Capta calcio cuando es estimulada (14). Altas concentraciones de calcio se almacenan en el retículo sarcoplásmico donde el ión se une en forma reversible a una proteína específica denominada Calcicuestrina (12).- La actividad de ATPasa de calcio en el músculo cardíaco y liso puede ser estimulada por la fosforilación de fosfolambina, proteína reguladora de la contracción de la fibra miocárdica. Este proceso se lleva a cabo por medio de la calmodulina o proteínas de-



**FIGURA 4**

**MECANISMOS BÁSICOS DE REGULACION DE  $Ca^{++}$  CITOPLÁSMICO**

( Consultar el texto como referencia ). COV.- Canales operados por Voltaje, COR.- Canales operados por Receptores, i.- Intercambio  $Na^{+}/Ca^{++}$ , e.- ATPasa del Sarcolema, rs.- Retículo sarcoplásmico, m.- Mitocondria, p.- Paso a través de la membrana, di.- Depósitos internos. ( Modificado de: Cavero, I., Spedding, H., " Calcium Antagonists: a Class of Drugs with a Bright Future " Life Sciences, 33:2571,1983 ).

pendiente de AMPc, por lo tanto, la relajación del miocardio puede presentarse por un aumento en la concentración celular de AMPc que fosforila a la fosfolambina (12, 15).

5. Mitochondria.- La mitocondria puede captar calcio en lugar de fosforilar ADP cuando las situaciones intracelulares lo requieren. Grandes cantidades de calcio pueden ser depositadas en estos organelos bajo la forma de un complejo calcio-fosfato, aunque la concentración de calcio mitocondrial es más baja que en el retículo sarcoplásmico. Los aumentos de calcio sarcoplásmico y mitocondrial están asociados con inhibición en la biosíntesis de ATP, alteraciones de la contracción miocárdica, lesiones ultraestructurales y muerte celular (12, 14, 15).
6. Paso a través de la membrana.- El calcio se mueve a través de la membrana de acuerdo a su gradiente de concentración, lo cual es independiente de los canales lentos del calcio (4, 14).
7. "Buffers" del calcio.- Se consideran hasta el momento a la calmodulina, troponina C, y fosforilasa de miosina (14).

Los canales del calcio son factores importantes que intervienen en la regulación del calcio intracelular. El número y función de estos canales puede variar importantemente de un tejido a otro (12).

Se sabe que existen dos tipos de canales del calcio (14, 15):

1. Canales operados por voltaje (COV)
2. Canales operados por receptores (COR)

La estructura de los COV no se conoce en la actualidad, pero es posible que esté constituida por lipoproteínas hidrofílicas. A una de éstas se le ha denominado calmodulina y probablemente sea el canal del calcio o parte del mismo. Una de las características de estos canales es que el paso de iones está controlado por dos puertas diferentes denominadas puertas de activación e inactivación; el calcio sólo puede fluir a través del canal cuando ambas puertas están abiertas (fig. 5). El proceso de activación e inactivación de estas puertas está controlado por un sensor de voltaje de la membrana que modifica la estructura del canal por cambios en el campo eléctrico del plasmalema (12).

Otra forma de entrada del calcio a la célula se lleva a cabo por los COR. Estímulos fisiológicos o drogas que activan los receptores - adrenérgicos elevan los niveles de AMPc, lo que facilita la transferencia de un fosfato del ATP para formar una unión fosfoéster con una de las proteínas en un canal inactivo, permitiendo así la participación del canal en la entrada del calcio a la célula (13, 14, 15).

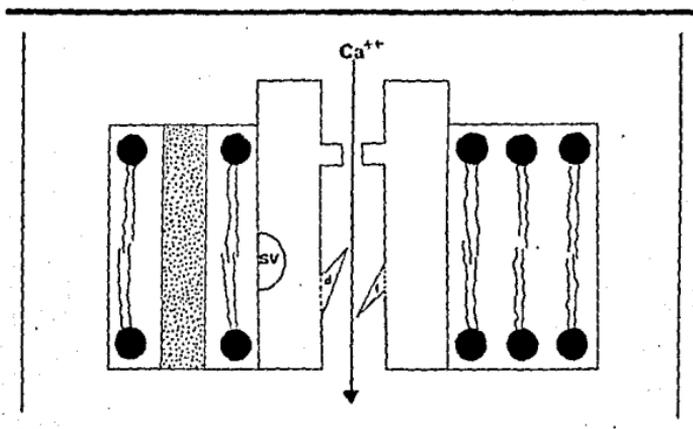


FIGURA 5

REPRESENTACION ESQUEMATICA DE ALGUNOS  
DE LOS COMPONENTES DEL CANAL DE  $Ca^{++}$

( Consultar el texto como referencia ) . SV.- Sensor de Voltaje, d.- Puerta de activación, f.- puerta de inactivación .  
( Modificado de: Caveno, I., Spedding, M., "Calcium Antagonists a Class of Drugs with a Bright Future " Life Sciences, 33:257), 1983 ).

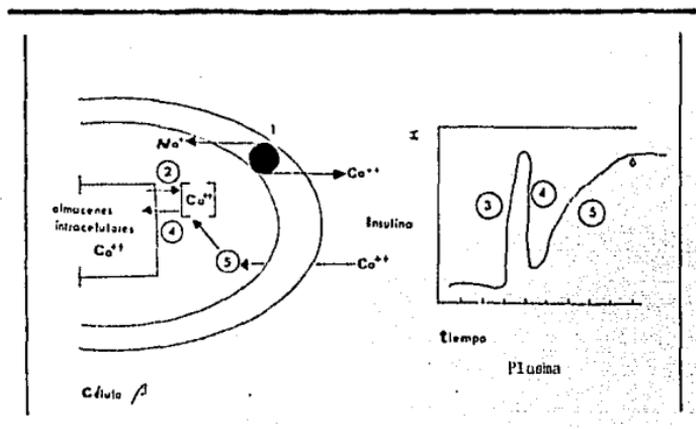
Está ampliamente aceptado el papel del calcio como regulador de múltiples procesos intracelulares y se ha demostrado que este ión, de alguna manera, participa en el "acoplamiento estímulo-respuesta" de diversos sistemas (4, 5).

Son varios los trabajos que han demostrado que la concentración del calcio en fluidos extracelulares es de importancia fundamental para la liberación de insulina (17, 18). La cantidad de insulina liberada en respuesta a la glucosa se relaciona directamente con la concentración del calcio intracelular hasta de 2 milimoles; concentraciones mayores de este valor no incrementan la liberación de insulina y en algunos casos pueden disminuirla (5). Los estudios experimentales favorecen la conclusión de que el calcio intracelular es necesario para la primera fase de liberación de insulina, mientras que la captación de calcio del líquido extracelular es necesario para el desarrollo completo de la segunda fase (1, 4).

El papel del calcio en la liberación hormonal fue demostrado por primera vez por Douglas y cols. (16), que encontró que para la liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal y vasopresina de neurohipófisis, era indispensable la presencia de calcio. El término "acoplamiento estímulo-secreción" se acuñó para describir el proceso en el cual el influjo de calcio es un concomitante inevitable del estímulo y es determinante necesario para la respuesta hormonal. En un principio fue descrito como un proceso universal, lo cual actualmente no es del todo cierto. Muchas hormonas se secretan por exocitosis a partir de gránulos de almacenamiento previamente formados y el índice de liberación durante la estimulación aguda no se ve afectado por variaciones en el índice de síntesis. El papel del calcio es el de "facilitar" el proceso de exocitosis aunque en general algunas hormonas dependen totalmente del calcio para su liberación. Se ignora si el calcio actúa en un solo lugar, si afecta la síntesis hormonal o la liberación, o algún otro mecanismo del proceso de secreción. Esto ha sido ampliamente estudiado y el término "acoplamiento" estímulo-respuesta denota cualquier respuesta celular específica a un estímulo fisiológico que es completa o parcialmente determinado por el calcio (11, 16).

Se ha propuesto un modelo para la liberación de insulina en el que se pondera la importancia del calcio, y el cual consta de seis pasos básicos (Fig. 6):

1. Comienza por una inhibición del flujo de calcio regulado por la glucosa y que por sí solo es insuficiente para estimular la liberación de insulina.
2. Se inicia la utilización de calcio a partir de los almacenes intracelulares con el consiguiente aumento de este ión en el citosol y aumento de la liberación de insulina.
3. El calcio del citosol y el índice de liberación de insulina aumentan hasta que los mecanismos de regulación reaccionan.
4. Los mecanismos reguladores disminuyen el calcio del citosol por lo que disminuye la liberación de insulina.
5. Se produce un aumento del influjo de calcio.
6. La concentración de calcio intracelular aumenta nuevamente resultando en un nuevo aumento de la liberación de insulina. Esto constituye la segunda fase (4).



**FIGURA 6**

MODELO PARA LA LIBERACION BIFASICA DE INSULINA ESTIMULADA POR GLUCOSA

( Los números corresponden al texto ).

( Modificado de: Wollheim, C., Sharp, G., " Regulation of Insulin Release by Calcium ", Phys. Rev., 61:914, 1981. )

Esta nueva clase de drogas ha tenido aceptación rápida y entusiasta desde su aprobación por la Food and Drug Administration (FDA) en 1981. - Las más utilizadas en la clínica actualmente son Verapamil, Nifedipina, Diltiazem, Felhexilina y Nicardipina, de las cuales, solamente las tres primeras, han sido aprobadas para su uso en los E.E.U.U. por la FDA (13, 19, 20).

En 1964, Fleckenstein encontró que los efectos del Verapamil y Prenilamina sobre el corazón eran similares a los producidos por la deprivación de calcio extracelular, emitiendo las bases con respecto a su posible mecanismo de acción (21, 22). Ahora se sabe que estas drogas inhiben el flujo de calcio a la célula regulado por los canales lentos y aparentemente no afectan el mecanismo de intercambio sodio-calcio (13). - Los BC son moléculas orgánicas lipofílicas y sin carga que varían en forma importante en su estructura química (Fig. 7) y probablemente en su sitio de acción (13, 20). Es poco probable que compitan en forma reversible con el calcio uniéndose a los sitios de transporte de este ión, por lo que se piensa que inactiven a diversos componentes de los canales del calcio. Al parecer su acción más importante se lleva a cabo en los COV aunque existen todavía interrogantes con respecto a sitios y mecanismos de acción (20, 21, 22).

Las diferencias que presentan entre ellos justifican el hecho de -- que se considere la existencia de subgrupos de BC, existiendo al menos -- dos:

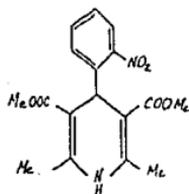
1. Agentes que evitan la acción de canales lentos (Nifedipina).
2. Agentes que alteran la cinética de activación e inactivación de los canales lentos (Verapamil).

Los BC tienen diferentes efectos en diversos tipos de tejidos corporales, y en general cualquier estructura que contenga músculo liso, los nodos cardíacos y cualquier célula en cuya función estén implicados los canales lentos, son susceptibles de modificar su función bajo la acción de los BC. Estos efectos pueden variar entre especies por diferencias -

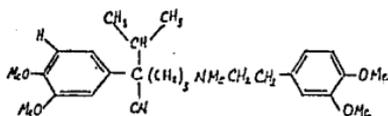
y de acuerdo a la estructura química variable de cada BC, influyendo también la vía de administración (13, 20, 23).

Entre los efectos potencialmente aceptados de los BC, a diversos niveles se encuentran los de corazón y diferentes territorios circulatorios, músculo liso del tracto gastrointestinal y sus anexos, músculo liso bronquial, sistema genitourinario, sistema de la hemostasia, sistema circulatorio pulmonar, efectos analgésicos y potenciales modificaciones endócrinas a diferentes niveles (24).

## NIFEDIPINA



## VERAPAMIL



## DILTIAZEM

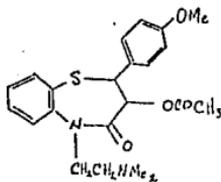


FIGURA 7

" LOS BLOQUEADORES DEL CALCIO "

La nifedipina pertenece a una nueva clase de sustancias, las 1,4-dihidropiridinas (Fig. 7), sintetizadas por primera vez por Bossert y Vater y que éste último investigó posteriormente en los laboratorios Bayer. Desde hace 11 años, se ha venido estudiando la eficacia clínica de la nifedipina, habiéndose dirigido las primeras líneas de investigación sobre los efectos de este fármaco en la prevención o al menos retraso de la isquemia miocárdica, aunque a partir de estos hallazgos, el panorama de aplicaciones de los BC, sea cada día más amplio (24, 25, 26, 27).

Después de su administración por vía oral, la nifedipina es absorbida en un 90% (23, 25, 27, 28). La droga es detectable en el suero tres minutos después de su administración sublingual y veinte minutos después de su administración oral, alcanzando sus niveles máximos, en este último caso una a dos horas después de su administración. Su vida media plasmática es de cuatro a cinco horas. Aunque actualmente su única presentación comercial es en cápsulas, se están evaluando nuevas presentaciones; las tabletas demuestran tener mayor vida media y la presentación parenteral podrá ser útil para algunos padecimientos agudos. Más del 90% de la droga circulante se une a proteínas y posteriormente es completamente metabolizada a productos inertes, que son excretados por la orina en un 75% y por el tracto gastrointestinal en un 15% (23, 25, 27, 28, 29).

Cuando se administra por vía oral se pueden alcanzar dosis de 10-60 mg. de nifedipina cada cuatro a ocho horas; si la administración es intravenosa la dosis se calculará entre 0.005-0.015 mg/Kg de peso. Usualmente se inicia con una dosis de 10 mg. cada ocho horas que podrá aumentarse progresivamente hasta lograr el efecto requerido o hasta la aparición de efectos indeseables (23, 28).

Estas drogas, son en general bien toleradas. Los efectos colaterales se han reportado en menos del 10% de pacientes, y son provocados generalmente por la vasodilatación que producen estos fármacos. Los principales efectos colaterales de estos fármacos suelen ser: cefalea, taquicardia, hipotensión, sensación de mareo, náusea, fatiga y rubor. Se han

reportado complicaciones más graves a nivel cardíaco, pulmonar o renal, pero que no pasan de ser anecdóticas por tratarse de reportes únicos. Estos efectos usualmente ocurren los primeros diez días de tratamiento, desapareciendo posteriormente (19, 23, 26, 28).

Este compuesto, disponible desde 1956, es el prototipo de las sulfonilureas. Tiene actividad hipoglucémica media y corta duración de acción, con mínimos efectos secundarios. La duración de su actividad es de 6-8 horas metabolizándose rápidamente por coxilación hepática, excretándose totalmente por la orina.

Su administración provoca un descenso de la glucemia que se inicia - entre 30-60 minutos después de su administración oral, con un pico máximo a las 4 horas. Su mecanismo de acción es debido a la estimulación de la secreción de insulina por la célula beta pancreática. Esta se lleva a cabo por ligero aumento del número de células beta, aumento de la degranulación de las mismas y tal vez por cierto efecto periférico, en el sentido de la inhibición de la lipólisis observada "in vitro" en adipocitos humanos. En cualquiera de los casos se requiere de cierta integridad funcional de la célula beta para que la tolbutamida ejerza su acción.

La dosis habitual pueda oscilar entre 250-1000 miligramos tres veces al día, y al obtenerse la dosis máxima de 3-4 gramos, la curva dosis-respuesta se torna asintótica, sin aumento del efecto hipoglucemiante al aumentar estas dosis (10).

Tomando en consideración, que la segunda fase de liberación de la insulina es un proceso dependiente del influjo de calcio extracelular hacia la célula beta, que este proceso depende de canales lentos ya descritos en cuanto a su función y que los HC impiden la entrada de calcio a la célula, es teóricamente posible, que dichos fármacos (nifedipina) - afecten esta fase de liberación de la insulina por inhibición.

Bajo las mismas bases y considerando los mecanismos funcionales de un hipoglicemiante oral (tolbutamida) es posible en este contexto teórico, que estos efectos hipoglicemiantes pudieran ser inhibidos por el HC en estudio.

En base a lo anterior, se proponen las siguientes hipótesis:

- H-0. La nifedipina no afecta los niveles séricos de glucosa ni la acción de la tolbutamida en los sujetos sometidos a estudio - (hipótesis nula).
- H-1. La nifedipina puede afectar la liberación de insulina en su segunda fase con reflejo significativo en la glucosa plasmática (hipótesis positiva No. 1).
- H-2. La nifedipina puede modificar los efectos hipoglicemiantes de la tolbutamida reflejándose ésto en los niveles plasmáticos de glucosa (hipótesis positiva No. 2).

El propósito del presente trabajo es establecer primariamente en un modelo animal, las hipótesis positivas, para posteriormente extrapolarlas al humano sano y en su caso al humano con alteraciones en el metabolismo de los HC. La corroboración final de esta línea de investigación podría ser trascendente para ajustar el uso de la nifedipina y de este mismo fármaco en asociación de hipoglicemiantes orales.

Para el presente estudio se utilizaron cuarenta perros, de sexo masculino, sin determinante racial específico ("canis vulgaris"), cuyo peso osciló entre 10 y 15 Kgs., con dentadura íntegra, divididos al azar en cuatro grupos iguales, siendo sometidos a un período de ayuno, previo al estudio, de diez a doce horas.

En forma inicial, se colectó una muestra de sangre de todos los perros para cuantificación de glucosa en plasma. Inmediatamente, y en forma ciega, el primer grupo recibió placebo, el segundo una dosis única de 500 mgs. de tolbutamida, el tercero una dosis única de 10 mgs. de nifedipina y el cuarto y último grupo, dosis única de 500 mgs. de tolbutamida más 10 mgs. de nifedipina en forma simultánea. Todos los medicamentos -- fueron administrados por vía oral. Cuatro horas después de la administración de los fármacos, y habiendo mantenido a los animales en reposo y sin alimentos, se tomó una nueva muestra de sangre para cuantificación de glucosa en plasma. Todas las muestras fueron procesadas inmediatamente después de su obtención, por el método de la O-toluidina (Merkotest 81691).-- El análisis estadístico se realizó con la "t" de Student aplicada a cada grupo, así como análisis de varianza (prueba "F") y "t" de Student pareada para muestras homogéneas y heterogéneas ("t" de Cochran", para la comparación entre grupos.

Los resultados numéricos de las glicemias correspondientes a los -- cuatro grupos aparecen en la tabla I.

El primer grupo corresponde a los animales que recibieron placebo.-- En este grupo la  $\bar{x}$  antes del placebo fue 111.918 y la  $\bar{x}$  después de su administración, de 111.547. No hubo diferencia significativa entre los -- dos grupos de muestras (Gráfica 1).

El segundo grupo corresponde a los animales que recibieron nifedipi na. La  $\bar{x}$  antes de su administración fue de 126.93 y posterior a la admi nistración del fármaco de 149.41. Existe diferencia significativa den-- tro del grupo, con una "p" mayor de 0.001 (Gráfica 2).

El tercer grupo que recibió tolbutamida, mostró una  $\bar{x}$  previa de -- 129.08 y después de la administración del fármaco fue de 115.55, exis-- tiendo diferencia significativa dentro del grupo, con "p" mayor de 0.001 (Gráfica 3).

El cuarto grupo recibió la asociación nifedipina-tolbutamida, con - una  $\bar{x}$  previa de 124.34, siendo después de ambos fármacos de 137.93, exis-- tiendo diferencia significativa dentro del grupo, con "p" mayor de 0.001 (Gráfica 4).

La comparación de los resultados de los grupos I y II ("p" mayor de 0.001) y III y IV ("p" mayor de 0.001) también muestra diferencia signi-- ficativa en cuanto a las glicemias problema (Gráficas 5 y 6).

T A B L A I

NIFEDIPINA Y GLICEMIA

PERRO	GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III		GRUPO IV	
	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES
1	110.00	108.00	135.80	145.80	127.77	113.49	123.07	130.00
2	106.60	108.30	124.50	179.20	130.55	116.38	123.70	130.76
3	108.00	108.00	131.10	164.10	132.63	122.22	122.72	139.37
4	108.00	107.60	130.10	160.30	123.61	110.83	123.48	132.57
5	112.50	109.70	135.80	158.40	131.94	113.61	123.93	144.09
6	105.50	109.40	118.40	133.00	123.61	108.75	122.72	138.03
7	115.20	111.10	130.70	149.23	133.33	116.66	123.27	143.54
8	118.00	116.60	123.00	146.15	126.38	113.61	130.17	137.90
9	126.15	126.01	123.00	133.32	133.30	125.00	125.86	141.93
10	109.23	110.76	116.90	125.67	127.77	115.00	124.48	141.12

p = N.S.

p 0.001

p 0.001

p 0.001

GRUPO I = PLACEBO

GRUPO II = NIFEDIPINA

GRUPO III = TOLBUTANIDA

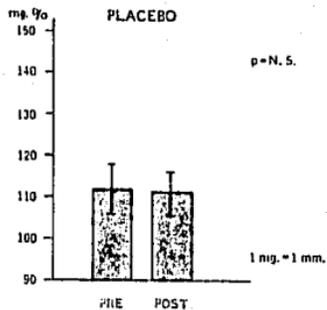
GRUPO IV = NIFEDIPINA + TOLBUTANIDA

GRUPO I-II --- p 0.001

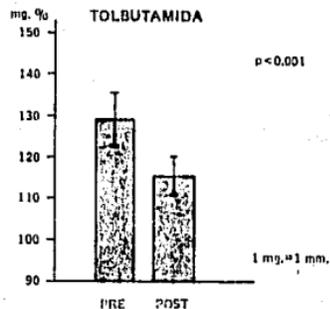
GRUPO II-IV --- p 0.001

"Resultados numéricos de los glucemias en los cuatro grupos de perros estudiados, antes y después de la administración de los fármacos de prueba. En la parte inferior de cada columna se señala el valor de "p" de cada grupo".

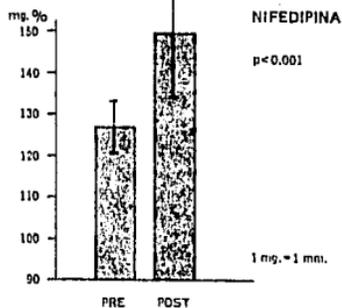
GRAFICA 1



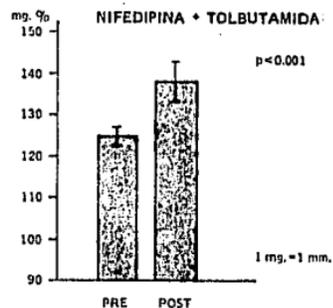
GRAFICA 3



GRAFICA 2

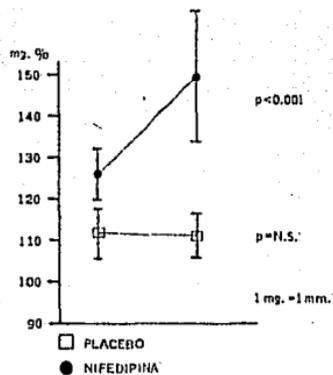


GRAFICA 4

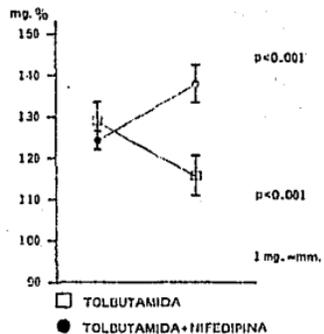


"Representación gráfica comparativa de los resultados de los cuatro grupos en estudio. El grupo de - la nifedipina (Gráfica 2) muestra importante diferencia con respecto al del placebo (Gráfica 1). En la misma forma es evidente la diferencia entre la administración de tolbutamida (Gráfica 3) únicamente y -- los obtenidos al asociarla a nifedipina (Gráfica 4)".

GRAFICA 5



GRAFICA 6



"Comparación asociada entre los resultados de los grupos I y II (Gráfica 5) y III y IV (Gráfica 6) con la significación estadística obtenida por el análisis pareado".

En la revisión previa a la realización de este trabajo, no se encontró ningún reporte protocolizado, que estudiara los efectos de la nifedipina sobre la glucosa sérica, existiendo comunicaciones y observaciones aisladas, algunas controvertidas, pero que no aclaran el problema (3, 17, 31, 34).

Los resultados de este trabajo, demuestran que, en el perro, la nifedipina eleva los niveles séricos de glucosa y antagoniza la acción de una dosis simple de tolbutamida. Aunque cada grupo es control de sí mismo, se tomaron como segundos controles los grupos I y III para de esa forma tratar de dominar la variable correspondiente al manejo del animal que, al no estar anestesiado y ser sometido a la administración oral del fármaco, podría contribuir a alterar las cifras de glucosa, elevándolas por desencadenamiento de los mecanismos de "estrés"; este factor se descarta al hacer la comparación entre grupos.

Los resultados se justifican en el contexto transversal de la aplicación de los fármacos; sin considerar que a largo plazo, otros mecanismos compensadores pudieran equilibrar el desorden encontrado en cuanto a las cifras de glucosa. De la misma manera, el mecanismo de producción de este hecho, no tiene explicación en el presente trabajo, por no haberse cuantificado niveles de insulina, motivo de siguientes estudios, aunque de acuerdo con algunos autores (3, 5), dicho efecto podría estar dado por la inhibición del influjo de calcio a la célula beta durante la segunda fase de liberación de la insulina. Probablemente el efecto hiperglicémico de la nifedipina podría ser mayor, pero tal vez su efecto vasodilatador aumente el consumo periférico de glucosa, y en seres con acción insulínica normal, pueda ser menos relevante (3, 30), por lo que se impone la realización de estudios semejantes con cuantificación de insulina y péptido C.

La importancia de demostrar la variabilidad de la glicemia bajo el uso de la nifedipina, radica en la amplia difusión clínica de dicho fármaco y que de afectar los niveles séricos de glucosa en el humano, debería de considerarse en el momento de valorar las cifras diagnósticas de

glicemia (2, 37). De la misma forma, y ante dicha hipótesis, debería tomarse en cuenta al usarse en pacientes diabéticos tipo II, sobretodo manejados con tolbutamida, si se demuestra el efecto antagónico en estos casos a largo plazo.

Probablemente, este último hecho sea más atractivo que la hiperglicemia en sí. La acción inhibitoria de la nifedipina sobre la tolbutamida, apoyaría la teoría en la que el BC actuaría en alguna parte del metabolismo insulínico, calcio dependiente, interfiriendo con él; si la acción de la nifedipina fuera periférica, tal vez no se observara este hecho, aunque no se descarta la posibilidad de que la nifedipina pudiera modificar la acción del post-receptor insulínico.

Estos hallazgos preliminares nos proponen estudiar los efectos de la nifedipina sobre los niveles de insulina y posteriormente aplicarlo a humanos sanos y portadores de Diabetes Mellitus tipo II cuyo control no dependa de insulina. Por supuesto, será también necesario la protocolización de estudios longitudinales de este problema. Efecto semejante se ha demostrado con otros fármacos de amplio uso, como tizidas, propranolol y diazóxido (35, 36), tanto en sujetos sanos como intolerantes a HC. Este trabajo no trata de proponer el desuso del fármaco, pero la corroboración de estos datos y la confirmación de hallazgos en estudios consecutivos alertaría al clínico a la hora de su administración.

1.- En perros no anestesiados, la nifedipina produce incrementos significativos de los niveles séricos de glucosa.

2.- La nifedipina, en los mismos animales de estudio, inhibe los efectos que sobre la glucosa plasmática ejerce la administración de tolbutamida.

3.- Deberá seguirse un protocolo secuencial de estudios para corroborar o descartar estos hallazgos en humanos sanos y en diabéticos tipo II, y valorar adecuadamente las precauciones de su uso.

4.- Con los presentes datos, no podemos concluir el o los mecanismos por los cuales se podrían lograr las acciones descritas, aunque podemos pensar, de acuerdo a bases fisiológicas y farmacológicas, la posibilidad de inhibición en la liberación de insulina a nivel de la célula beta pancreática, por efecto de la inhibición del influjo de calcio causado por la nifedipina.

1. Ganong, W.F.; "Review of Medical Physiology" 11th. Ed. Lange Ed. New-York, pp. 763, 1983.
2. National Diabetes Data Group, "Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance", Diabetes, 28:1039, 1979.
3. Brass, E.P.; "Effects of Antihypertensive Drugs on Endocrine Function", Drugs, 27:447, 1984.
4. Wollheim, C.B., Sharp, G.W.G.; "Regulation of Insulin Release by Calcium", Phys. Rev., 61:914, 1981.
5. Hellman, B.; "The Significance of Calcium for Glucose Stimulation of Insulin Release", Endocrinology, 97:392, 1975.
6. Robbins, D.C., Tager, H.C., Rubenstein, A.H.; "Biologic and Clinical-Importance of Proinsulin", N. Engl. J. Med., 310:1165, 1984.
7. Bell, G.I., Pictet, R.L., Rutter, W.J., Cordell, B., Fischer, E., -- Goodman, H.M.; "Sequence of the Human Insulin Gene", Nature, 284:26, 1980.
8. Overbach, D., Dell, G.I., Rutter, W.J., Brown, J.A., Shows, T.B.; -- "The Insulin Gene is Located on the Short Arm of Chromosome 11 in Humans", Diabetes, 30:267, 1981.
9. Goodman, A., Goodman, L.S., Gilman, A.; "The Pharmacologic Basis of Therapeutics", 6th. Ed. Macmillan Publishing Co. Boston, pp. 1497, -- 1980.
10. Kaplan, S.A.; "Diabetes Mellitus", Ann. Intern. Med., 96:635, 1982.
11. Alberts, B., Bray, D.; "The Molecular Biology of the Cell", 1st. Edition, Garland Publishing Baltimore, 302, 1983.
12. Cuveto, I., Spedding, M.; "Calcium Antagonists: a Class of Drugs with a Bright Future. Part I. Cellular Calcium Homeostasis and Calcium as a Coupling Messenger" Life Sciences, 33:2571, 1983.
13. Antman, E.M.; "Calcium Channel Blocking Agents in the Treatment of -- Cardiovascular Disorders: Part I: Basic and Clinical Electrophysiologic Effects", Ann. Intern. Med., 93: 875, 1980.

14. Braunwald, E.; "Mechanism of Action of Calcium Flocking Agents" N. -- Engl. J. Med., 307:1618, 1982.
15. Braunwald, E.; "Calcium Channel Blockers: Pharmacologic Considerations" Am. Heart J., 104:665, 1983.
16. Millar, J.A., Struthers, A.D.; "Calcium Antagonists and Hormone Release", Clinical Science, 66:249, 1984.
17. Marinis, L., Barbarino, A.; "Calcium Antagonists and Hormone Release.- I. Effects of Verapamil on Insulin Release in Normal Subjects and Patients with Islet-Cell Tumour", Metabolism, 29:599, 1980.
18. Haysigquier, Y., Chevalier, F., Gueux, E., Remesy, C., Denigne, C.; -- "Glucose-Stimulated Insulin Secretion in Rats with Normal Plasma Calcium Levels: Effects of Calcium Deficiency", J. Nutr., 112:1901, 1982.
19. Council on Scientific Affairs; "Calcium Channel Blocking Agents" JAMA, 250:2522, 1983.
20. Schwartz, A., Triggle, D.J.; "Cellular Action of Calcium Channel Blocking Drugs" Ann. Rev. Med., 35:325, 1984.
21. Cauvin, C., Loutzenhiser, R., Breemen, C.; "Mechanisms of Calcium Antagonists-Induced Vasodilation", Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 23:373, 1983.
22. Breemen, C., Mangel, A., Fahim, M., Meishev, K.; "Selectivity of Calcium Antagonistic Action in Vascular Smooth Muscle", Am. J. of Med., - 23:142, 1984.
23. Stone, P.H., Antman, E.M., Muller, J.E., Braunwald, E.; "Calcium Channel Blocking Agents in the Treatment of Cardiovascular Disorders. Part II: Hemodynamic Effects and Clinical Applications", Ann. Intern. Med., 93:886, 1980.
24. Snyder, H.S., Reynolds, J.I.; "Calcium-Antagonist Drugs: Receptor Interactions that Classify Therapeutic Effects", N. Engl. J. Med., 313: - 995, 1985.
25. Kronenberg, G., Krebs, R.; "Pharmacology of Nifedipine", Excerpta Medica (Amsterdam) 85:14, 1981.
26. Ebner, F., Donath, M.; "Mode of Action and Efficacy of Nifedipine" Excerpta Medica (Amsterdam) 85:25, 1981.

27. Opie, L.H.; "Calcium Antagonists", *Lancet*, 8172 11:806, 1980.
28. Karlsberg, R.P., Aronow, W.S.; "Calcium Channel Blockers: Indications" *Postgr. Med.*, 72:97, 1982.
29. Schwartz, M.L., Rotnensch, H., Vlauses, P.H., Ferguson, R.K., "Calcium Blockers in Smooth Muscle Disorders", *Arch. Intern. Med.*, 144:1425, -- 1984.
30. Ferlito, S., Fichera, C., Carró, G., Puleo, F., Cafalato, N., Volpice-lli, D.; "Effect of Nifedipine on Blood Sugar, Insulin and Glucagon Levels After an Oral Glucose Load", *Pharm. Med.*, 23:75, 1981.
31. Leinweber, K.P., Schatz, H.; "Long-Term and Short-Term Effects of Calcium Verapamil and Diazoxide on Biosynthesis and Release of (Pro) Insulin in Isolated Islets of Rat Pancreas", *Act. End.*, 99:94, 1982.
32. Giugliano, D., Torella, R., Caciopuoti, F., Gentile, S., Verza, M., Varichio, R.; "Impairment of Insulin Secretion in Man by Nifedipine", -- *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 18:395, 1980.
33. Donnelly, T., Hanouver, A.; "Effects of Nifedipine on Glucose Tolerance and Insulin Secretion in Diabetic and Non-Diabetic Patients", *Cur. - - Med. and Op.*, 6:690, 1980.
34. Charles, S., Ketelslegers, J.W., Buyschaert, M., Lambert, A., "Hyperglycaemic Effect of Nifedipine", *Br. Med. J.*, 283:19, 1981.
35. Zelis, R., Flain, S.; "Calcium Influx Blockers and Vascular Smooth Muscle: Do we Really Understand the Mechanism", *Ann. Intern. Med.*, 94:-- 124, 1981.
36. Helgeland, A.; "Serum Glucose Levels During Long-Term Observation of - Treated and Untreated Men with Mild Hypertension", *Am. J. Med.*, 76:-- 802, 1984.