



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, OD.**

**DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA ENDOTELIAL EN PACIENTES
CON DIABETES TIPO 2.**

**TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD DE
MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA:
ROGELIO ZAPATA ARENAS**

**TUTOR:
Dr. GALILEO ESCOBEDO MARTINEZ**

**COTUTOR:
Dra. BEATRIZ YADIRA SALAZAR VÁZQUEZ A**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO:
DR. ANTONIO GONZÁLEZ CHÁVEZ**

MÉXICO, D.F., JULIO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

| | |
|--|-------------------------------|
| Antecedentes | 6 |
| Planteamiento del problema | 28 |
| Justificación | 29 |
| Trabajo clínico | 31 |
| Pregunta de investigación clínica | 31 |
| Hipótesis clínica | 31 |
| Objetivo general clínico | 32 |
| Objetivos específicos clínicos | 32 |
| Material y métodos clínicos | 32 |
| Diseño | 33 |
| Universo de estudio clínico: | ¡Error! Marcador no definido. |
| Universo muestral: | 33 |
| Criterios de inclusión: | 33 |
| Criterios de exclusión: | 33 |
| Variables en estudio: | 35 |
| Variable independiente: | 35 |
| Variable dependiente. | 35 |
| Variables intervinientes | 35 |
| Variables confusoras: | 36 |
| Tamaño de muestra | 37 |
| Procedimiento clínico: | 37 |
| Análisis estadístico clínico | 39 |
| Aspectos éticos | 40 |
| Resultados | 40 |
| Discusión de hallazgos clínicos | 43 |
| Bibliografía | 53 |

Lista de tablas

| Número | | Página |
|---------|---|--------|
| Tabla 1 | Características de la población de pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus en estudio. n = 129. . | 35 |

Lista de imágenes

| Número | | Página |
|--------|---|--------|
| 1A | Distribución de la presión arterial media sanguínea en función del hematocrito en sujetos sanos. | 36 |
| 1B | Distribución de la presión arterial media en función del hematocrito en pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus. | 37 |
| 2 | Distribución de la presión media sanguínea en función del hematocrito de acuerdo a los datos reportados por Natali et al. | 39 |
| 3A | Distribución de la presión arterial media en función del hematocrito para pacientes con bajo hematocrito. | 42 |
| 3 B | Distribución de la presión arterial media en función del hematocrito para pacientes con hematocrito en el rango "óptimo". | 43 |

Resumen

Objetivo . Determinar la relación entre presión arterial media (MAP) y hematocrito (Hcto) en pacientes con diabetes mellitus (DM) tipo 2 y en un grupo control de individuos sanos.

Material y métodos. Estudio trasversal en el que se determinó el Hcto y MAP en 129 sujetos con DM (87 mujeres y 42 hombres) y 103 sujetos sanos (76 mujeres y 27 hombres).

Criterios de exclusión: Consumo de alcohol, enfermedad coronaria, neoplasias, enfermedades inflamatorias, renales o hepáticas.

Resultados. En los pacientes con DM la relación entre el Hcto y la MAP fue bimodal ($p < 0.001$) con elevadas presiones sanguíneas correspondientes a altos y bajos Hcts. En el grupo control la relación entre Hcto y MAP fue directamente proporcional.

Conclusiones. La distribución bimodal encontrada en los pacientes con DM se debe probablemente a la falta de mecanismos regulatorios que hacen la MAP independientemente del Hcto en sujetos normales.

Palabras clave: Diabetes, hematocrito, presión sanguínea, viscosidad sanguínea, respuesta endotelial.

CAPÍTULO 1

Antecedentes

La diabetes mellitus y sus complicaciones son en el momento actual, el problema de salud de mayor incremento en el mundo, considerándose un problema epidémico.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), hay 346 millones de personas con diabetes en el mundo y se considera una epidemia mundial relacionada con el aumento del sobrepeso, obesidad e inactividad física, y se calcula que las muertes por diabetes aumentarán 50% en los próximos 10 años. Así mismo, los casos de diabetes tipo 2 en niños han aumentado en todo el mundo y representan casi el 50% de los nuevos casos diagnosticados en este grupo de edad. (1)

En los países en desarrollo se registra el 80% de las muertes por diabetes, siendo el grupo más afectado el de 35 a 64 años de edad. El 50% de los pacientes diabéticos, mueren por enfermedad cardiovascular (cardiopatía o accidente vascular cerebral). (1)

Entre otras complicaciones, la neuropatía diabética en extremidades inferiores, asociado a la reducción de flujo sanguíneo, incrementa el riesgo de úlceras y en consecuencia de amputación. Se calcula que la neuropatía diabética afecta al 50% de los pacientes. (1)

La OMS calcula que el impacto económico de la diabetes y sus complicaciones cardiovasculares será tan solo en China de \$558 000 millones de dólares en el período de 2006 a 2015. (1)

Como medidas de prevención y control de la diabetes y sus complicaciones por parte de la OMS, especialmente en países de ingresos bajos y medios, destaca la formulación de directrices científicas de prevención, elaboración de normas y criterios de atención, fomentar la consciencia acerca de la epidemia mundial de diabetes, así

como realizar tareas de vigilancia de la diabetes y sus factores de riesgo, fomento de la dieta saludable y de la actividad física regular, así como la reducción de la obesidad y sobrepeso. (1)

Desde 1996 en la Declaración de las Américas; se señaló la necesidad de que esta enfermedad se considerara una prioridad en la salud pública en toda América. Para ese entonces se calculó que en América vivían 30 millones de personas con diagnóstico de diabetes mellitus, lo que equivalía a más de la cuarta parte del total de casos mundiales; se previó que para el año 2010 el número de casos en América llegará a 45 millones, teniendo en consideración el envejecimiento demográfico de las poblaciones, así como la tendencia de ciertos grupos étnicos los cuales presentan una mayor incidencia y prevalencia de diabetes y por último las tendencias en los principales factores de riesgo relacionados con el proceso de modernización que esta ocurriendo en todos los países en desarrollo (2,3).

Destaca que México presenta características epidemiológicas peculiares que requiere de la elaboración de estrategias propias para hacer frente a esta problemática.

El impacto nacional de esta entidad se ve reflejada en los distintos centros de atención concentrándose principalmente en el Instituto Mexicano del Seguro Social quien concentra el 44.9% del total de egresos hospitalarios, seguido por la secretaria de salud con el 36.2% y el instituto de seguridad y servicios sociales de los trabajadores del estado con el 12.3 %. (4)

Se estimó que en el periodo entre 1994 a 2006 los costos directos aumentaron a poco mas de 940 000 000 de dólares y poco mas de 105 000 000 millones de dólares en complciaciones. (5)

Dentro de la mortalidad por tipo, la diabetes tipo 2 representa el 42.56 por cada 100 000 personas, la diabetes tipo 1 el 1.5 .(4)

Este carácter epidémico ha podido ser demostrado en numerosos estudios en poblaciones como las islas del Pacífico sur, indios de Asia en las islas Fiji, en Sudáfrica,

en Mauritania y en Estados Unidos los indios Pima, los México-Americanos, en japoneses americanos y Afroamericanos. En particular los Japoneses - Americanos y los Chinos en Mauritania son extraordinariamente interesantes, ya que tradicionalmente estas personas se han considerado grupos étnicos con alta resistencia a la diabetes (6-17).

En cuanto a los México-Americanos que han modificado su estilo de vida, su patrón cultural y su alimentación; el riesgo de presentar diabetes mellitus tipo 2, va de 5.9 a 9.9% en la población adulta.

En relación a los blancos no latinos de Estados Unidos la probabilidad en los México-americanos es de 5.4% mayor en el rango de los 35 a los 44 años, de 3.2% entre los 45 y 54 años y de 2.4% entre los 55 y 64 años. Evidentemente el riesgo va decreciendo conforme aumenta la edad. En relación a los datos publicados en México, la diabetes mellitus se ha convertido en un problema de salud pública dado que la prevalencia estimada en la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónico Degenerativas es en promedio de 6.7% y para la región norte del país en la cual se encuentra Durango es de 7.8%; con la característica que en la zona rural de este Estado en el cual existen condiciones de marginación y pobreza la prevalencia de diabetes mellitus es menor y se ha mantenido sin variaciones significativas fluctuando de 1.3-3.0% (6-17).

La diabetes mellitus es un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por una hiperglucemia crónica relacionada con una inadecuada acción de la insulina, acompañada por una gran cantidad de alteraciones bioquímicas y manifestaciones clínicas cuya naturaleza y gravedad dependen de la patogenia subyacente al estado diabético, del grado de deficiencia de la acción de la insulina, de la participación de factores ambientales y del daño progresivo de diversos tejidos. Esta enfermedad es generalmente diagnosticada sobre bases clínicas tomando en consideración los síntomas y las complicaciones agudas o crónicas secundarias a los niveles de glucosa sanguínea elevados; sin embargo, es importante no perder de vista que el estado diabético, aun cuando llena ciertos criterios diagnósticos, varía en la gravedad de sus manifestaciones clínicas iniciales y puede presentarse en forma repentina como una

alteración metabólica potencialmente letal o, por el contrario, manifestarse con pocos o ninguno de los síntomas o signos clásicos y por ello escapar a la detección por 8 a 10 años. Durante esta importante fase preclínica, muchas de las complicaciones micro-macrovasculares se desarrollan silenciosamente (6-17).

Al determinar la glucosa en ayunas el valor considerado como límite normal es de 100 mg/dl, por arriba de esta cifra hasta 125 mg/dl; el trastorno se denomina alteración de la glucosa de ayuno.

En la actualidad, según la Asociación Americana de la Diabetes, el diagnóstico de diabetes mellitus se establece con una hemoglobina glicada mayor a 6,5%, una glucosa en ayuno de mayor de 126 mg / dl (sin ingesta calórica durante por lo menos 8 h) o una glucosa sérica mayor de 200 a las dos horas de la prueba de tolerancia a la glucosa, o en la presencia de síntomas clásicos (poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso) de la hiperglucemia o hiperglucémico crisis, o en una determinación de glucosa plasmática al azar mayor de 200 mg / dl. (14)

En la curva de tolerancia a la glucosa las personas que se encuentran a las 2 horas posteriores a la ingesta de la glucosa; con cifras ≥ 140 mg/dl pero < 200 mg/dl se les diagnostica intolerancia a la glucosa. La tolerancia a la glucosa puede ser normal o anormal, pero con un defecto en la respuesta a la insulina; la resistencia a la insulina o la falla en su acción, se refiere a una respuesta biológica disminuida a una concentración específica de la hormona que se refleja por un estado de hiperinsulinemia compensatoria (18,19).

El propósito fundamental de la identificación de la sensibilidad a la insulina en un individuo o población particular es llevar a cabo acciones encaminadas a modificar la evolución de la enfermedad a través de la prevención primaria y secundaria. Idealmente, el método para determinar la acción a la insulina debería estar disponible, ser rápido, barato, bien tolerado, sensible, reproducible, y dispuesto a evidenciar los mecanismos celulares comprometidos; por desgracia, ninguna de las técnicas actuales cumple con todos esos requerimientos; hasta el momento actual el clamp de glucosa-

insulina es reconocido como el método de referencia para valorar la acción de la insulina.

Se lleva a cabo por medio de una infusión constante de insulina durante al menos 2 horas para producir un estado de hiperinsulinemia, así como por medio de la administración variable de dextrosa intravenosa suficiente para mantener un valor euglicémico (glucemia dentro de valores normales) o isoglucémico (glucemia similar del valor basal). El consumo de la glucosa es directamente proporcional a la sensibilidad a la insulina; sin embargo su determinación es técnicamente compleja. Se requieren dos líneas intravenosas, una para las infusiones y otra para las tomas de muestra sanguíneas, esta última con el fin de arterializar la sangre y evitar variaciones en la glucosa; la canalización se lleva a cabo en forma retrógrada en la muñeca o en la mano, las bombas de infusión deben estar bien calibradas para ser capaces de ajustar la infusión a cantidades pequeñas, las determinaciones de glucosa deben realizarse en menos de 1 minuto para poder efectuar los ajustes pertinentes a la infusión de glucosa, debe vigilarse al paciente posterior al estudio para prevenir la hipoglucemia. Dada la alta tecnología requerida, el costo y la necesidad de personal adiestrado, este estudio se limita solo a algunos centros de investigación, pero existen desarrollos matemáticos, equivalentes, como es la prueba del HOMA, que determina la presencia resistencia a la insulina en los valores mayores de 3 al realizarse la siguiente operación, $(\text{glucosa de ayuno en mmol/L} \times \text{insulina de ayuno en } \mu\text{UI/ml}) / 22.5$. Las opciones de índices para calcular la sensibilidad a la insulina son muy amplias, se pueden acomodar a diversas necesidades y oportunidades; en general se recomienda que la forma de valorar la acción de la insulina corresponda con el objetivo que se persigue al llevarla a cabo con la población blanco (19).

La hiperglucemia por si misma tiene un efecto deletéreo sobre la secreción de insulina y sobre la acción de esta hormona en los tejidos periféricos. La incubación in vitro de las fibras musculares en concentraciones elevadas de glucosa conduce a una reducción en la utilización de glucosa inducida por la insulina; así el deterioro inducido por la glucosa en la acción de la insulina puede revertirse al llevar a la glucosa a concentraciones normales, lo que sugiere que el control en la concentración de glucosa sanguínea en

Los sujetos con trastornos de la glucosa puede mejorar la resistencia a la insulina en el músculo; el mecanismo de la glucotoxicidad en el músculo involucra la vía de la hexosamina, en la cual la enzima aminotrasferasa de glutamina-fructuosa-6-fosfato desvía la glucosa de la vía glucolítica a nivel de la fructuosa 6 fosfato; la exposición del músculo a la glucosamina reduce la estimulación del transporte de glucosa y de la traslocación de GLUT 4 por la insulina. Los ratones transgénicos que sobre expresan aminotrasferasa de glutamina-fructuosa-6-fosfato son resistentes al efecto de la insulina sobre la utilización de la glucosa en el músculo; en el músculo esquelético de sujetos con diabetes, la actividad de la aminotrasferasa de glutamina-fructuosa-6-fosfato se encuentra incrementada (19).

Además una gran variedad de mecanismos participan en la reducción de la sensibilidad a la insulina y la lista de condiciones que cursan con resistencia a ella es muy larga, no obstante algunas se han agrupado en el dominado síndrome metabólico, este fenotipo constituye uno de los principales factores de riesgo para enfermedad cardiovascular y se define de acuerdo con los criterios establecidos por las normas del tercer informe del panel de tratamiento de adultos del National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel (NCEP ATP III) a la presencia de tres o más de los siguientes componentes: Glucemia en ayuno ≥ 110 mg/dl, Presión arterial $\geq 130/85$ mm Hg, Obesidad abdominal determinada con circunferencia de cintura > 88 cm en la mujer y > 102 cm en el hombre, Triglicéridos ≥ 150 mg/dl, HDL colesterol en hombres < 40 mg/dl y < 50 mg/dl en mujeres (20).

El síndrome metabólico describe un grupo de alteraciones asociadas con el sobrepeso y la obesidad, siendo el componente más importante y frecuente de este síndrome, la obesidad, al igual que las alteraciones en el metabolismo de la glucosa se encuentra muy relacionada con el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (21,22).

Aunque la definición conceptual de obesidad es simplemente exceso de grasa corporal, su definición operacional (clínica), ha sido motivo de controversia, se suele expresar en términos del índice de masa corporal (IMC), denominado también índice de Quetelet, que se obtiene al dividir el peso de la persona entre el cuadrado de su talla. Los

términos obesidad y sobrepeso significan diferentes cosas para distintas personas, varias organizaciones mundiales han utilizado diferentes puntos límites hasta el consenso mundial adoptado por el National Institutes of Health en que el sobrepeso se considero un IMC mayor de 25 y obesidad mayor de 30.

En las últimas décadas la prevalencia de sobrepeso y obesidad se ha incrementado en todo el mundo, las tasas de obesidad en Estados Unidos, Canadá y México crecieron significativamente, según la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas, en personas de 20 a 69 años de edad de ambos sexos que vivían en poblaciones de más de 15,000 habitantes; utilizando un punto de corte IMC mayor de 30, mostró la prevalencia nacional de obesidad en 21.4%. Esta tiende a aumentar de manera constante desde los 20 hasta los 60 años de edad en cuyo punto la incidencia de obesidad comienza a disminuir. La magnitud del problema se puede cuantificar analizado el efecto de la obesidad sobre la mortalidad de acuerdo a Allison y colaboradores que indican que entre los adultos que restaban vivos en Estados Unidos al principio de 1991, de 28,000 a 32,500 de ellos no hubieran muerto durante ese año si no hubieran tenido sobrepeso u obesidad (23-26).

La relación que existe entre la obesidad y los componentes del síndrome metabólico, son incluso más poderosos para la obesidad de la parte alta del cuerpo (medida en relación de circunferencia de cintura); la mayoría de los investigadores han concluido que la cantidad de grasa visceral se relaciona más con estas anormalidades metabólicas; la dislipidemia del síndrome metabólico consiste en hipertrigliceridemia, valor bajo de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C), y una proporción mayor de partículas pequeñas densas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (19,26-29).

El tejido adiposo es el principal depósito de almacenamiento de los ácidos grasos (en forma de triglicéridos), el más importante combustible lípido en seres humanos. Después de ser liberados desde los adipositos, los ácidos grasos libres son trasportados en la sangre unidos a la albúmina y son rápidamente eliminados (en 3 a 4 minutos) de la circulación; los adipositos captan ácidos grasos de los triglicéridos circulantes presentes en los quilomicrones y en las partículas de lipoproteínas de muy

baja densidad, la acción de la lipasa de lipoproteína es necesaria para que esto suceda; una vez dentro de los adipositos los ácidos grasos son reesterificados en triglicéridos para almacenamiento. Las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres en general son más altas en obesos que en no obesos, estas concentraciones altas exponen a los tejidos sensibles como son músculo esquelético, islotes pancreáticos e hígado a exceso de combustible, tal vez relacionado con la mayor tasa de lipólisis; los adipositos grandes coexisten con el desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2, con una relación independiente y negativa entre la grasa subcutánea abdominal y la sensibilidad a la insulina (30,31).

Existe también una relación obesidad central, ácidos grasos libres altos e hipertensión arterial. La presión arterial se puede incrementar por varios mecanismos, aumento de volumen sanguíneo circulante, disminución de la relajación vascular y tal vez el aumento del gasto cardiaco; en el pasado se prestó mucha atención a la posibilidad de que la hiperinsulinemia, por su efecto del incremento de la absorción renal del sodio contribuyera a la hipertensión, al aumentar el volumen sanguíneo circulante, en la actualidad se reconoce al óxido nítrico como un componente crítico del sistema vasodilatador humano y la insulina tiene la capacidad para incrementar el flujo sanguíneo de músculo esquelético, que es mediado por aumento del óxido nítrico; la posible explicación bioquímica es que los ácidos grasos libres disminuyen la actividad de la sintetasa del óxido nítrico endotelial de una manera dependiente de la concentración en células endoteliales cultivadas, parece ser que los ácidos grasos libres interfieren con la vasodilatación mediada por óxido nítrico (NO) y esto puede contribuir a la hipertensión observada en el síndrome metabólico (32-35).

Este conjunto de factores de riesgo para padecer enfermedad cardiovascular se desarrolla con procesos ateroscleróticos, y los datos histopatológicos y clínicos indican una participación prominente de la inflamación a nivel endotelial (36,37).

El endotelio se consideró una membrana inerte del sistema circulatorio y que su función esencial primaria consistía en mantener la permeabilidad de la pared del vaso sanguíneo. A través del tiempo surgieron estudios como los realizados con

microscopio electrónico en la pared de los vasos sanguíneos por Palade en 1953 y los estudios fisiológicos de Gowan en 1959 quien describió la interacción entre los linfocitos y el endotelio de venulas poscapilares. Estudios subsecuentes condujeron al concepto actual del endotelio como un órgano dinámico, heterogéneo, diseminado, con funciones vitales, sujeto a lesiones por numerosos traumatismos, como el estrés oxidativo, lipoproteínas modificadas y fuerzas hemodinámicas (38-42).

La superficie celular del endotelio en el adulto se compone de ~ 1 a 6×10^3 células/mm², pesa ~ 1 kilogramo, y cubre un área superficial de aproximadamente 1 a 7 m². La célula endotelial regula en cada órgano el flujo de sustancias nutrientes, de moléculas biológicas activas diversas, y de las células de sangre, este papel del endotelio se efectúa con la presencia de una membrana que limita los receptores para numerosas moléculas incluyendo las proteínas, lípidos, metabolitos, hormonas, así como los receptores específicos directos que gobiernan interacciones de la célula y de la matriz celular; es un órgano dinámico que responde a un arsenal de agonistas y de desafíos ambientales, con un proceso continuo de activación que ayuda a coordinar funciones de los tejidos de tal manera que resuelve los requisitos del organismo en su totalidad, logrado por su localización en interfase con sangre y la capacidad de estas células especializadas de recibir y de transmitir la información bioquímica y física bidireccional (36,43-45).

También desempeña un papel en el flujo sanguíneo regulando la capacidad de la célula endotelial de generar una superficie antitrombótica en el tránsito del plasma y de los componentes celulares a través de los vasos; el flujo de la sangre también es regulado, en parte, por la secreción y el receptor de sustancias vasoactivas por el endotelio que actúa para realizar vasoconstricción y vasodilatación de lechos vasculares específicos en respuesta a estímulos como el que ejercen las endotoxinas. Perturbaciones tales como las que pueden ocurrir en los sitios de la inflamación o de la alta tensión de estrés hidrodinámico, interrumpen estas actividades e inducen a la formación de un micro ambiente protombótico y antifibrinolítico (45,46).

La información detectada en la superficie del lumen del endotelio se transmite por la impregnación directa o el transporte activo de mediadores solubles a través de los tubos capilares a tejidos finos más profundos o indirectamente con la capacidad de las células endoteliales de modular el comportamiento de las células lisas del músculo y de otros componentes de la pared del vaso sanguíneo. Además, los acontecimientos fisiológicos y patofisiológicos en tejido fino alteran interacciones de la célula endotelial con los componentes solubles y celulares de la sangre. El endotelio, con todos los tipos de la célula, exhibe una respuesta inmediata a los agonistas diversos la que es modulada de manera compleja por acontecimientos subsecuentes; esta primera respuesta aparece diseñada para prevenir la interrupción física de la pared del vaso por trauma, organismos microbianos, toxinas, u otras amenazas al mantenimiento intravascular del volumen y oxígeno. Esta respuesta protectora es lograda por la transformación rápida del endotelio a un estado procoagulante, vasoconstrictor, proinflamatorio que tiene efectos múltiples de su estructura y comportamiento. Varias ramificaciones de esta respuesta reflexiva, adaptante del endotelio, ha llegado a hacer evidente los rápidos cambios que la célula endotelial experimenta. En las últimas décadas los resultados de estudios apoyan la noción que varias enfermedades son en parte una consecuencia de alteración en las respuestas a la tensión del endotelio que prolongan o exageran la activación endotelial conduciendo a la disfunción que es un componente temprano, a menudo preclínico de la enfermedad vascular (45-47).

Las células endoteliales responden como ya se comentó no solo a los factores humorales en la circulación sino también a las condiciones mecánicas creadas por flujo de la sangre y al ciclo cardíaco, que se expresa por tres fuerzas mecánicas primarias: la presión, creada por las fuerzas hidrostáticas de la sangre dentro del vaso sanguíneo; el estiramiento o tensión circunferencial, que es el resultado de conexiones intercelulares definidas entre las células endoteliales y que ejercen fuerzas longitudinales en la célula durante la vasomotion; y la tensión de rozamiento que es la fuerza de fricción creada por el flujo de la sangre. De estas fuerzas, la tensión de rozamiento parece ser una fuerza hemodinámica importante porque estimula la secreción de sustancias vasoactivas, cambiando el metabolismo de la célula y su morfología (44-46).

La inflamación es una respuesta orgánica a un estímulo agresor, puede ser neuroendocrina, es decir, que favorece el desarrollo de fiebre y el incremento de cortisol y adrenalina; hematopoyética, con leucocitos, trombocitosis y anemia en las formas crónicas y metabólica, en la cual se genera lipólisis, en un equilibrio nitrogenado negativo y caquexia. El sistema inmunitario también participa de manera importante en el proceso de respuesta a los estímulos ofensores ambientales al coordinar la acción de los leucocitos y la producción de moléculas de adhesión, citocinas y quimosinas. Las quimosinas participan en la regulación del proceso inflamatorio y son mediadoras de la quimiotaxia celular al sitio de la inflamación; por su parte las citocinas desencadenan la llamada respuesta de fase aguda, misma que se produce por estímulos derivados de infecciones, neoplasias y lesiones hísticas físicas, químicas o ambas (47).

Entre las citocinas más importantes están el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF α), la interleucina 6 (IL6) y la interleucina 1(IL1), que son producidas por macrófagos, monocitos y células endoteliales; como consecuencia de la respuesta de fase aguda desencadenada por las citocinas, se eleva la concentración plasmática de algunas proteínas producidas por el hígado, las llamadas proteínas positivas de fase aguda, entre las que se encuentran el fibrinógeno, los factores VII y VIII, el inhibidor del activador de plasminógeno, la glucoproteína α 1, la antiqumiotripsina α 1, la haptoglobina, la proteína C reactiva, el amiloide A sérico y el ácido siálico.

Por otro lado disminuye la concentración de otras, las llamadas proteínas negativas de fase aguda, como la albúmina y la trasferina. Además recientemente se ha sugerido que la microalbuminuria pudiera ser un componente de la respuesta de fase aguda, esta respuesta debe visualizarse como una respuesta protectora del hospedador ante los estímulos agresores tanto del ambiente como los generados por el propio organismo. Así, por ejemplo, la ceruloplasmina y la haptoglobina, proteínas positivas de fase aguda, son antioxidantes que protegen al organismo contra los metabolitos tóxicos de oxígeno producidos en el sitio de lesión e inflamación. Sin embargo, la activación prolongada de la respuesta de fase aguda produce enfermedad en lugar de proteger contra el daño. En este contexto, a finales del decenio de 1990, el Dr. Pickup, del Departamento de Patología Química del Hospital Guy en Londres, propuso que el

origen de la diabetes tipo 2 y de algunas de sus complicaciones puede residir en los efectos a largo plazo de los estímulos ambientales que activan el proceso inflamatorio y de una adaptación anormal del organismo a la respuesta de fase aguda. La evidencia que apoya esta hipótesis se ha ido acumulando paulatinamente; en primer lugar, en los pacientes con diabetes tipo 2 que tienen manifestaciones del síndrome metabólico se han encontrado concentraciones elevadas de marcadores bioquímicos de la respuesta de fase aguda, tanto de citocinas como de proteínas de fase aguda. Algunas citosinas, como las interleucinas 1 y 6, actúan en el cerebro estimulando la producción hipofisaria de hormonas diabetógenas, como la hormona ACTH y la GH, produciendo hipercortisolemia, un hallazgo común en los pacientes con diabetes tipo 2 que favorece el desarrollo de resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hipertensión arterial y obesidad central. Además, la elevación de las citocinas incrementa los niveles séricos de triglicéridos, la producción de moléculas de adhesión, la proliferación del músculo liso vascular y el incremento de la permeabilidad endotelial, cambios que contribuyen a la aterogénesis, a la formación de microtrombos y a la aparición de microalbuminuria; en forma adicional, el TNF- α inhibe la actividad de la cinasa de tirosina del receptor de insulina, inhibición implicada en el desarrollo de resistencia a la insulina.

Finalmente, teniendo en cuenta que, in vitro, la insulina es un inhibidor de la síntesis de proteínas de fase aguda, la resistencia a la insulina pudiera ser por sí misma un mecanismo regulador de la respuesta de fase aguda. Estos hallazgos en su conjunto proveen las bases para entender las vías y mecanismos a través de los cuales la respuesta de fase aguda puede contribuir al desarrollo de la diabetes tipo 2 y a la aparición temprana de sus complicaciones. Es aquí que la producción de citosinas desencadenada por un proceso inflamatorio crónico leve ejerce un efecto deletéreo sobre la acción periférica de la insulina y contribuye o es parcialmente la causa del desarrollo de algunas de las complicaciones asociadas con la diabetes, en particular de la aterosclerosis acelerada. No obstante las evidencias sobre la elevación de los reactantes de fase aguda en el paciente con diabetes y en ausencia de los factores conocidos capaces de producir una respuesta inflamatoria, no se conoce aún el origen de la inflamación crónica leve, ni el porqué de la adaptación anormal del organismo a la respuesta de fase aguda (47).

En otro contexto, se han aportado evidencias acerca de que los mediadores de la inflamación son inducidos por glucotoxinas presentes en la dieta, los llamados productos finales de la glucosilación avanzada, los cuales se forman de manera espontánea durante la reducción de azúcares, proteínas y lípidos. Además de su reactividad química, que los define como potentes agentes oxidantes, los productos finales de la glucosilación avanzada son promotores de la producción de TNF- α , IL-6 y moléculas de adhesión e incrementan los niveles séricos de proteína C reactiva, lo que sugiere que, al menos en parte, el proceso inflamatorio asociado con la diabetes está mediado por oxidantes exógenos productores de estrés, como los productos finales de la glucosilación avanzada. Entre los alimentos más comunes generadores de productos finales de la glucosilación avanzada se encuentran las carnes rojas, el pollo asado, los huevos cocidos, el queso, el pan blanco, las pastas de harina (cocidas más de 12 min.) y el atún ahumado. Se calcula que la concentración de productos finales de la glucosilación avanzada en una comida “sana” puede ser de 12 a 22 millones de unidades, suficientes para inducir daño, se ha señalado que el estímulo desencadenador de la inflamación puede tener su origen en los adipositos, los que secretan y responden de una manera muy activa a las citocinas, particularmente al TNF- α , IL-1 e IL-6. En este contexto, se ha encontrado una asociación independiente entre los niveles tanto de TNF- α como de proteína C reactiva con la obesidad central, hallazgo que apoya la hipótesis de la participación del tejido adiposo en la patogénesis de la inflamación. Se ha planteado que un incremento en el roce endotelial generado por el aumento de la viscosidad sanguínea relacionada con los picos posprandiales de glucosa pudiera desencadenar o contribuir en el desarrollo del proceso inflamatorio crónico leve en los pacientes con diabetes (47).

El endotelio está expuesto permanentemente a este tipo de estímulos mecánicos de fricción y como ya se mencionó a estímulos químicos, humorales y celulares; respondiendo a ellos mediante la liberación de numerosos factores vasoactivos, ejerciendo funciones de permeabilidad selectiva al tamaño y a la carga eléctrica, regulando el tono vasomotor mediante factores constrictores, y relajantes de las células musculares lisas, la proliferación y crecimiento de las células de la pared vascular mediante la acción de factores con actividades estimuladoras e inhibitoras del

crecimiento. El endotelio regula la agregación plaquetaria, fibrinólisis, coagulación, y adhesión de leucocitos a las células endoteliales; todas estas acciones integradas de numerosos agentes sintetizados y liberados por el endotelio vascular, como el óxido nítrico (NO), el factor hiperpolarizante (EDHF), la prostaciclina (PGI₂), la endotelina - 1(ET-1), el tromboxano A₂ (TXA₂), las especies reactivas de oxígeno como los aniones súperoxido e hidróxilo y el peróxido de hidrógeno; los diversos estimuladores del crecimiento, moléculas de adhesión de leucocitos (ICAM-1, VCAM-1), factores que intervienen en la coagulación y factores reguladores de la fibrinólisis. Cabe mencionar de manera especial al óxido nítrico que tiene acciones relajantes del músculo liso vascular, anticrecimiento, antiagregante plaquetario, antiadherente de leucocitos y estimulador de la fibrinólisis, es decir, el óxido nítrico regula todas las funciones vasculares por lo que se considera el principal y más importante factor derivado del endotelio así mismo cuando la síntesis y/o liberación del óxido nítrico es deficiente la capacidad homeostática del endotelio vascular empeora y constituye uno de los acontecimientos claves en la llamada disfunción endotelial (48).

El aumento en la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS) ha estado implicado también en esta disfunción endotelial. Se han identificado varios mecanismos potenciales que pueden explicar los aumentos en la generación de ROS durante la hiperglicemia incluyendo la auto oxidación de la glucosa, la sobreproducción mitocondrial del anión del súper óxido por el transporte de electrones, la depleción de la tetrahidrobiopterina y la síntesis de los productos finales de la glicación. Estudios recientes indican que la hiperglicemia aguda aumenta la producción de ROS in vivo, esto causa disfunción endotelial y reduce el shear stress oscilatorio global y local de la pared en arterias coronarias intactas, causando disfunción endotelial, y un mayor riesgo cardiovascular (49-56).

La hiperglucemia crónica produce una acumulación de productos de glicación reversibles, productos de glicación avanzada en diferentes proteínas estructurales y circulantes del organismo generando simultáneamente un estrés oxidativo y carbonílico, proceso denominado glicoxidación. Se ha demostrado que las diferentes proteínas plasmáticas son afectadas por la glicación y/o glicoxidación produciéndose en ellas

modificaciones fisicoquímicas y alteraciones en su metabolismo. La glicoxidación de las lipoproteínas adquiere características particulares respecto a otras proteínas, por producirse al mismo tiempo en la porción proteica así como en los fosfolípidos que generan un estrés oxidativo favoreciendo la lipoxidación; la glicación no enzimática consiste en la interacción de la glucosa con las proteínas, la participación de enzimas, en un proceso que depende exclusivamente de la concentración del monosacárido y del tiempo de contacto con las proteínas determinado por la vida media de cada una en particular (57).

El estrés oxidativo es definido como pérdida del equilibrio entre la producción de radicales libres o de especies reactivas de oxígeno y los sistemas de defensa, que tienen efectos deletéreos sobre los carbohidratos, lípidos y proteínas. Además ha sido relacionado con la progresión de diferentes enfermedades crónicas y con apoptosis. En el organismo existe un equilibrio entre las moléculas pro-oxidantes y los sistemas de defensa antioxidante, los pro-oxidantes como el anión superóxido (O_2^-) son producidos por la liberación de electrones de alta energía a lo largo de la cadena de transporte electrónico mitocondrial y por las reacciones enzimáticas catalizadas por la xantina-oxidasa, el citocromo P 450 y la fosfolipasa A2, mientras que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se produce a nivel de la cadena mitocondrial de transporte electrónico por la auto-oxidación de algunas moléculas de bajo peso molecular y por la dismutación del anión superóxido medida por la enzima superóxido dismutasa; el peróxido de hidrógeno como tal no es muy reactivo, sin embargo en presencia de metales reducidos como el Fe^{2+} y el Cu^+ , se convierte en el radical libre hidroxilo ($HO\cdot$), altamente reactivo. El anión peroxinitrito ($ONOO^-$) se forma por la reacción entre el NO con el oxígeno, este ion es también una molécula altamente reactiva que se rompe para formar $HO\cdot$. Existe un sistema de defensa celular contra estas especies reactivas de oxígeno al que contribuyen mecanismos enzimáticos y no enzimáticos. Dentro de los primeros se encuentran enzimas como la catalasa, la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, otros componentes del sistema de defensa celular son las vitaminas hidrosolubles como la vitamina C y liposolubles como la vitamina E y los tocoferoles en conjunto con ciertas proteínas plasmáticas como la transferrina que une Fe^{2+} y los tocoferoles y reduce la participación en los procesos de radicales libres. El estrés

oxidativo conduce a cambios bioquímicos sobre algunas moléculas fundamentales, como los carbohidratos, los lípidos, proteínas y los ácidos nucleicos los cuales pueden producir daño tisular; estos cambios se han relacionado con el daño vascular en la progresión aterosclerosis e incluso en la apoptosis. Igualmente se ha demostrado que el oxígeno producido por las células endoteliales disminuye la actividad vasomoduladora del factor relajante derivado del endotelio (FRDE) u oxido nítrico, al oxígeno también se le ha implicado en el daño tisular en los procesos de isquemia y de aterosclerosis (57-60).

Todos estos cambios hemorreológicos han despertado gran interés y alcanzado relevancia en las últimas décadas en diferentes áreas de la medicina, debido al impacto en estudios de la microcirculación. Hoy sabemos que las alteraciones en el flujo de la sangre están participando en la presentación de aterosclerosis, isquemia, e hipertensión arterial. Si bien este avance tecnológico ha permitido facilitar y precisar el perfil hemorreológico en diversos padecimientos, al igual que otras variables séricas, su resultado depende de muchos factores, por lo que en ocasiones no es posible asegurar si estas desviaciones son causa o consecuencia de la enfermedad. A pesar de ello, la viscosidad sanguínea ha mostrado ser un marcador cuya implicación clínica está siendo hoy analizada (60-65).

El estudio de la hemorreología en la diabetes mellitus no se ha quedado atrás y ha cobrado importancia debido al incremento de la prevalencia de la diabetes en el mundo y en algunos países de Latinoamérica incluyendo México; más aún las alteraciones hemorreológicas parecen predecir algunas de las complicaciones más frecuentes en diabetes (66).

En la diabetes mellitus participan varios elementos que pueden modificar las condiciones hemorreológicas de la sangre, en particular los relacionados a la hiperglucemia y la viscosidad sanguínea; hoy día se sabe que el incremento en algunas de las proteínas plasmáticas como el fibrinógeno y la alfa 2, microglobulina se relacionan a la hiperviscosidad, mejor que a la propia elevación de la glucosa; esto ha sido mejor demostrado en algunos ensayos clínicos donde el incremento en forma

intencional y aguda de la glucosa no modifica la viscosidad sanguínea. En cambio el incremento de proteínas de elevado peso molecular como el fibrinógeno y aún de menor tamaño como el colesterol repercuten sobre la viscosidad plasmática y han sido asociados a microangiopatía en el diabético. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que la aparición de cada una de estas complicaciones aparecen en forma irregular y difiere una de otra no solo en relación al tiempo de evolución de la diabetes sino del control glucémico; esto sugiere que los mecanismos fisiopatológicos pueden ser diferentes para cada una y que otros factores como los ambientales, genéticos o hemorreológicos puedan jugar un papel importante en la aparición o progresión de las diferentes complicaciones crónicas (67-71).

La diabetes es una enfermedad multifactorial que afecta la regulación cardiovascular por disfunción metabólica; y la hipertensión comúnmente acompaña a esta enfermedad. Las causas para la hipertensión son también multifactoriales, teniendo como base el incremento en la resistencia vascular periférica, determinada principalmente por el tono de los vasos arteriales y secundariamente por la viscosidad sanguínea. La viscosidad sanguínea toma un segundo lugar dentro del análisis de factores determinantes de la hipertensión en comparación con el efecto del tono vascular dado que los cambios del diámetro de los vasos afectan la resistencia vascular periférica de acuerdo a las leyes de Poiseuille en proporción al 4to poder de los cambios de diámetro, mientras los cambios debidos a la viscosidad sanguínea están relacionados linealmente (72,73).

Hallazgos clínicos sostienen que el Hcto elevado causa complicaciones e indica la existencia de una relación directa entre hipertensión, Hcto alto y viscosidad sanguínea en individuos normales e hipertensos. En general se advierte que los pacientes hipertensos tienen mayor Hcto que los individuos control normotensos. Incrementando la viscosidad sanguínea por el incremento del Hcto u otros mecanismos, esta considerado como potencialmente patológico, como lo demostró el estudio de Daneshet et al., 2000, quien encontró un incremento en el riesgo cardiovascular asociado con la elevación del Hcto. Debe ser notado que el estudio Framingham Heart encontró que la anemia también es un factor de riesgo independiente para padecer enfermedad cardiovascular (74-76).

Los cambios sistémicos en el Hcto deberían ser un hecho común en el tratamiento de la hipertensión; dado que los diuréticos reducen el volumen del plasma, conduciendo a la hemoconcentración y al incremento de la viscosidad sanguínea (76).

Notablemente este incremento del Hcto no ha sido asociado con resultados patológicos. Como ejemplo el estudio de Simone et al. 2005, muestra que la presión sistólica sanguínea y la viscosidad tienen una relación negativa en indios Americanos que participaron en el Strong Heart Study, quienes presentan alta presión en combinación con baja viscosidad sanguínea y Hcto ($p < 0.01$). Martini et al., 2005, produjo un pequeño agudo incremento en el Hcto sistémico en hámster despiertos y encontró que la disminución de la presión arterial media (77-79).

Es de considerar que variaciones del Hcto y por lo tanto los cambios en la viscosidad sanguínea cambian el shear stress sobre el endotelio, y por lo tanto la producción de materiales vasoactivos tales como óxido nítrico (NO), prostaciclina y endotelina, las cuales tienen un efecto directo en el diámetro microvascular. Por lo tanto los cambios de la viscosidad sanguínea son potencialmente poderosos mediadores de la resistencia vascular periférica como se comentó anteriormente. La relación entre la viscosidad sanguínea y la presión arterial media (MAP) mostró ser mediada por la producción de NO, Martini et al, 2005, quienes encontraron significativamente disminuidas las concentraciones plasmáticas de NO en animales pre-tratados con la NO sintetasa inhibidor L-NAME, comparados a animales no tratados. En el mismo estudio el aumento de Hcto en los ratones knock out que no producen NO, por el NO sintetasa endotelial, no causaron vasodilatación; esto deja bien establecido el enlace entre Hcto, viscosidad sanguínea, shear stress y la regulación de MAP. La hemoglobina es un barredor de NO, por lo tanto el incremento del Hcto debería en principio competir con la vasodilatación debido al incremento del shear stress, pero este efecto no parece ser significativo; en los experimentos de Martini et al. Natali et al., 2005 mostraron que el Hcto está directamente relacionado a los pequeños vasos endoteliales dependiendo de su dilatación (y por lo tanto a la viabilidad endotelial) por comparación de las respuestas a la inyección de acetilcolina (ACh) y al nitroprusiato de sodio (SNP) en el antebrazo de una población de diabéticos y un control no diabético (79,80).

Los vasos sanguíneos están revestidos por endotelio que presenta una gran área de intercambio de materiales entre la sangre y el tejido, y está fundamentalmente implicado en muchos procesos tales como los ya mencionados de regulación de flujo sanguíneo, respuesta inflamatoria y coagulación sanguínea. A lo largo de su superficie luminal se encuentra revestido por el glicocalix, una capa de macromoléculas ligadas organizadas en una malla membranosa de glucoproteínas, proteoglicanos, glucosaminoglicanos y proteínas plasmáticas. El ácido hialurónico, y el heparan sulfato (con carga negativa) son los mayores constituyentes. El glicocalix se consideraba una capa con un espesor de pocos nanómetros, actualmente se ha demostrado que alcanza 0.4-5.0 μm intraluminalmente lo que fue determinado por microscopía electrónica lo que causaría que este material ocupe de 10 al 20 % del volumen intravascular.

En años recientes se ha reconocido que el glicocalix endotelial puede contribuir a efectos vasculoprotectores de la pared de los vasos. Se ha demostrado que los constituyentes del glicocalix tales como el ácido hialurónico están involucrados en la regulación de la liberación de NO. Esta capa también mantiene la permeabilidad vascular y protege un amplio conjunto de enzimas que pueden contribuir a efectos vasculoprotectores (81-82).

La enzima extracelular superóxido dismutasa (SOD), una enzima que convierte los radicales de oxígeno a peróxido de hidrógeno está ligada a los proteoglicanos del heparansulfato en el glicocalix. El daño del glicocalix esta acompañado por el incremento en la difusión de la enzima SOD, la cual está probablemente relacionada a la disminución de la disponibilidad del heparansulfato en los sitios vinculados. El segundo cambio de sitio balancea hacia un estado pro-oxidante; estas observaciones son de particular interés porque alteran la permeabilidad vascular, atenuando la biodisponibilidad del NO, característica temprana de la aterogénesis (81).

El endotelio está envuelto en la regulación de las vías de coagulación, tales como la generación de trombina que esta cuidadosamente minimizada por un amplio conjunto de factores inhibidores de la coagulación, formando antitrombina, el sistema de proteína C y las vías inhibitoras del factor tisular, todas localizadas en las capas del glicocalix

endotelial. La disrupción específica del glicocalix genera trombina así como la adhesión de plaquetas en pocos minutos; además varios estímulos procoagulantes tales como las citoquinas pro-inflamatorias tiene profundos efectos sobre la síntesis de los componentes del glicocalix (por ejemplo el heparan sulfato y el ácido hialurónico) y estos probablemente contribuyan a la disminución de la viabilidad de los principales sistemas anticoagulantes (81,82).

La exposición de moléculas sobre las células endoteliales y subsecuentemente el enrolamiento de los leucocitos transmiten estos eventos críticos en el curso de la aterogénesis; el glicocalix está probablemente ligado a servir como una barrera a la adhesión leucocitaria. La inflamación y la isquemia inducen la pérdida del glicocalix endotelial por lo que puede ser un componente esencial en la respuesta inflamatoria vascular, pues se ha demostrado una atenuación del papel de los leucocitos sobre la superficie endotelial durante el estímulo inflamatorio aterogénico (81).

A pesar de estas observaciones, es difícil mostrar la directa relevancia del glicocalix como una barrera protectora. Mientras que las investigaciones se han enfocado tradicionalmente a la microvasculatura, la aterosclerosis no aparece en los microvasos. Se debe enfatizar que la relevancia del glicocalix no está confinada a los pequeños vasos, dado que este ha sido recientemente visualizado dentro de grandes arterias en diferentes modelos animales; en los grandes vasos (i.e. arteriolas) se ha demostrado una disminución de la extravasación de las partículas de LDL dentro del espacio subendotelial, este dato por lo tanto implica que el glicocalix podría aumentar las propiedades vasculoprotectoras en la pared de la micro y macro vasculatura (81).

Muchos experimentos han demostrado la importancia de un glicocalix endotelial intacto. La disrupción de este puede ser causada por numerosos factores, por ejemplo la inflamación y la isquemia pueden inducir su pérdida. Interesantemente las capas del glicocalix en los roedores de experimentación están disminuidas al comparar las regiones de riesgo altas y bajas en la arteria carótida, dándole soporte al papel potencial en la disrupción del glicocalix en la interpretación de las regiones con trastornos de flujo más susceptibles a aterogénesis (81).

La visualización directa del glicocalix endotelial en humanos no ha sido posible, principalmente por que es una estructura muy delicada dependiendo críticamente de la presencia de plasma fluyendo. Como consecuencia la mejor forma de medirlo en humanos, es comparando los volúmenes intravasculares; usando marcadores permeables en el glicocalix permeable para medir el total del volumen circulatorio y marcadores que no penetran al glicocalix impermeable para medir el volumen circulatorio excluyendo al glicocalix, lo que permite estimar el volumen del glicocalix por medio de la substracción de estos dos volúmenes. La disrupción del glicocalix esta acompañada por el aumento a la sensibilidad de la vasculatura hacia los estímulos aterogénicos y la restauración del glicocalix puede (al menos en parte) revertir este incremento a la vulnerabilidad vascular. Los datos sobre los cambios del glicocalix en humanos son aún escasos. Nuevas opciones para estimar el volumen del glicocalix en vivo podrían permitir que estas medidas fueran un marcador de enfermedad cardiovascular, así como valorar que intervenciones y en que extensión dirigir su restauración (81,82).

El glicocalix tiene fuerte influencia sobre las interacciones entre el flujo sanguíneo y las células endoteliales y por lo tanto afecta muchos procesos fisiológicos. Su existencia ha sido controversial y su potencial fisiológico comienza a ser explorado (83).

La extensión del glycocalix ha sido documentada principalmente por evidencia visual en estudios microscópicos y análisis de cambios microhemodinámicos inducidos por técnicas que presumiblemente cambian la extensión del glycocalix. Se ha realizado un significativo incremento en el flujo capilar de glóbulos rojos (GR) en el músculo cremaster de la rata por la inyección intrarteriolar de heparinasa con diámetro arteriolar, capilar y velocidad de flujo de glóbulos rojos constantes. Se indujo un cambio substancial en el grosor de superficie endotelial por degradación exponiendo el tejido a iluminación local de una lámpara con arco de vapor de mercurio infundiendo al animal con FITC Dextran 70 kDA. Para lo cual se usaron micro partículas para determinar el perfil de velocidad de flujo en las células libres cerca y encontraron la presencia de una capa superficial que impedía el flujo cerca de la pared de los vasos. También se han usado técnicas microscópicas basadas en el análisis de las trayectorias de partículas

microscópicas dentro de la sangre donde se puede estimar un grosor de plasma layer en los microvasos > 20 μm diámetro (82,83).

Estudios sobre el plasma layer o el glycocalix generalmente están enfocados a eventos aislados dentro de los microvasos o a los cambios globales en todo el volumen del glicocalix. Sin embargo pocos estudios reportan los efectos microhemodinámicos de la degradación del glicocalix. La presencia de perturbaciones en la microred hemodinámica fue sugerida por Zuurbier, 2005, quien encontró que en corto plazo la hiperglicemia incrementa la permeabilidad del glicocalix endotelial y disminuye de forma aguda la densidad capilar funcional (FCD), un indicador importante de supervivencia del animal en estudios de resucitación de la hemorragia, más confiable que el flujo sanguíneo o la oxigenación del tejido (82,83).

Planteamiento del problema

Está claro que el endotelio no es un órgano homogéneo; diversos lechos vasculares tienen funciones especializadas como consecuencia de la diversidad genética y del impacto ambiental. Estas diferencias bioquímicas y fenotípicas extienden la susceptibilidad a la función de lesión en su totalidad.

La población saludable presenta un rango de Hcto debido a adaptación ambiental, dieta, predisposición genética, y por lo tanto las respuestas endoteliales a los cambios potenciales del shear stress deberían ser un factor en la autorregulación de la presión arterial media (MAP) con el resultado que en los individuos sanos la MAP debería ser esencialmente independiente de los cambios moderados del Hcto. Estudios preeliminares muestran que la MAP en la población diabética no es independiente del Hcto. Esto presupone la ausencia de un mecanismo de regulación que relaciona el shear stress, la producción de NO y la vasoactividad. El shear stress y el mecanismo por el cual este es transmitido a la membrana endotelial actúan a través del glicocalix. El glicocalix es un sistema de derivados del azúcar que cubren el endotelio con un espesor de hasta 0.5 micrones. Dado que la glicemia involucra un desbalance de la distribución de azúcar en la sangre y el tejido, se propone la hipótesis que la falla de la mecanotraducción del shear stress a la membrana endotelial es debida a una alteración del glicocalix. Esta hipótesis es en parte justificada por datos preliminares en la literatura indicando que tanto la diabetes como la insulina disminuyen el volumen del glicocalix.

Justificación

La hiperglicemia y la resistencia a la insulina características de la diabetes tipo 2 causan disminución de la respuesta microvascular a la acción vasodilatadora del óxido nítrico (NO). Esta disfunción radica en el endotelio, afectando su capacidad de reaccionar a cambios de la viscosidad sanguínea. La viscosidad de la sangre es principalmente determinada por hematocrito (Hcto). La población normal o con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 presentan una variabilidad natural del Hcto, lo que permite eslabonar el control de la vasodilatación relacionado al endotelio con el Hcto prevalente, influyendo estos factores sobre la presión arterial media (MAP). Esta relación en individuos sanos es de escasa relevancia, dado que el aumento de MAP determinado por el aumento de viscosidad, es corregido por el aumento de tasa de corte (shear stress) y la producción de NO determinado por el aumento de viscosidad. Este efecto es moderado en parte por el incremento de barrido del NO debido al aumento de hemoglobina, molécula con una gran afinidad por el NO.

El balance entre los efectos hemodinámicos de la viscosidad sanguínea, y los efectos vasoactivos son debido al balance entre la producción y el barrido del NO que es también afectado porque el estrato plasmático (plasma layer) es alterado en el sujeto con diagnóstico de diabetes mellitus por la disminución del glicocalix y la superficie del ácido hialurónico en la membrana endotelial. Este estrato plasmático controla la distancia entre la columna de glóbulos rojos y la pared endotelial, y por lo tanto controla la tasa de corte y el barrido de NO. Mientras que la disminución del glicocalix en la diabetes es establecida, su efecto microcirculatorio no lo es.

Estos estudios presentan un componente clínico en el cual se propone establecer la relación entre Hcto y MAP en personas sanas y pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus, para evidenciar la disfunción endotelial. En la parte básica se estudia experimentalmente el efecto de la disminución del glicocalix sobre la función

microcirculatoria, para evidenciar el mecanismo que por el cual actúa la disfunción endotelial en la diabetes.

CAPÍTULO 2

Trabajo clínico

Pregunta de investigación clínica

¿Existe una respuesta diferenciada entre la población sana y pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus con respecto a las diferencias de Hcto que se presentan naturalmente?

Hipótesis clínica

Una población que presenta disfunción endotelial tiene menor capacidad de compensar la variabilidad natural del Hcto.

Para probar esta hipótesis estudiamos la MAP y el Hcto en pacientes diabéticos y comparamos esta población con una población control de personas sanas..

Objetivo general clínico

Determinar la relación entre Hcto y la MAP en adultos sanos y adultos con diagnóstico de diabetes mellitus.

Objetivos específicos clínicos

- 1) Determinar la relación entre hematocrito y la hipertensión en adultos con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.
- 2) Establecer el patrón de hematocrito y presión arterial media en adultos sanos.

Material y métodos clínicos

Sitio de desarrollo del trabajo:

El trabajo clínico se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica del Hospital General Regional #1 del Instituto Mexicano del Seguro Social en el Estado de Durango. Unidad de Medicina Experimental UNAM, Hospital General de México.

Diseño

Estudio trasversal comparativo.

Grupos en estudio clínico.

Grupo A: Adultos sanos

Grupo B: Adultos con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.

Universo muestral:

Adultos que acudieron a las unidades de investigación. Para este efecto se desarrolló un proceso de selección por invitación abierta.

Criterios de inclusión:

- Hombres y mujeres no embarazadas.
- Mayores de 30 años de edad.
- Que aceptaron participar y firmaron el formato de consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

Sujetos con diagnóstico previo de trastornos hemorreológicos.

Sujetos con consumo de alcohol, El consumo de alcohol fue definido por la ingesta ≥ 30 g por semana (82).

Sujetos con diagnóstico de enfermedad coronaria, previamente diagnosticada.

Sujetos con antecedentes de trauma o realización de cirugía mayor en los últimos 6 meses.

Sujetos con diagnóstico previo de neoplasias.

Sujetos con diagnóstico previo de trastornos de inflamación crónica, enfermedad renal o hepática.

Sujetos fumadores. Considerándose fumadores, si en los últimos seis meses consumieron al menos un cigarrillo por día.

Sujetos que recibieron hemotransfusión en los últimos 6 meses.

Variables en estudio:

Variable independiente:

Hematocrito

Variable cuantitativa continua

Porcentaje de glóbulos rojos contenidos en el plasma.

Para fines de este estudio se considero Hcto normal en el rango de 43-45%.

Variable dependiente.

Presión arterial media (MAP).

Variable cuantitativa continua

Fue determinada usando la relación: $MAP = D_{iastólica} + 1/3(S_{istólica} - D_{iastólica})$.

Para fines de este estudio se consideró la MAP normal en 100 mm/Hg.

Variables intervinientes

Hipertensión arterial.

Variable cuantitativa continua.

Para fines de este estudio se tomaron los valores limítrofes normales de la presión arterial de acuerdo con el VII Joint National Committee Recommendation (86).

Diabetes

Sujetos con diagnostico previamente establecido en base a los siguientes criterios: Presencia de síntomas clásicos y una glucemia plasmática casual > 200 mg/dl (11.1 mmol/L); glucemia plasmática en ayuno > 126 mg/dl (7 mmol/L); o bien glucemia > 200

mg/dl (11.1 mmol/L) a las dos horas después de carga oral con 75 g de glucosa disuelta en 150ml de agua (87).

Perfil de lípidos:

Cuantitativa continua.

Para fines de este estudio se considerara dislipidemia a los valores de triglicéridos \geq 150 mg/dl, HDL colesterol en hombres $<$ 40 mg/dl y $<$ 50 mg/dl en mujeres (88,89).

VARIABLES CONFUSORAS:

Obesidad central.

Cuantitativa continua.

Para fines de este estudio se considero como obesidad central la circunferencia de cintura $>$ 88 cm para mujeres y $>$ 102 cm para los hombres. La Circunferencia de la Cintura (CC) se midió a nivel de la cicatriz umbilical con una cinta métrica sintética (90).

Edad

Cuantitativa continua.

Para fines de este estudio se consideró la edad en años cumplidos de acuerdo a la fecha de nacimiento.

Estas variables confusoras fueron evaluadas y no se encontró que afectaran los resultados.

Tamaño de muestra

$$n = Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 p(1-p)(r+1) / (d)^2 r$$

$$\alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.20$$

$$p = 0.5$$

$$r = 1:1$$

$$n = Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 p(1-p)(r+1) / (d)^2 r$$

Se utilizó para el cálculo de tamaño de muestra

Se realizó a través del programa Epistat

Grupo personas sanas 100 sujetos.

Grupo de personas con diagnóstico de diabetes mellitus 100 (91).

Procedimiento clínico:

Previo al inicio del estudio, se realizaron sesiones de trabajo con los participantes a efecto de estandarizar los criterios y técnicas de medición de las variables, y resolver los problemas de planeación.

El proceso de integración de la muestra se realizó en población abierta de la ciudad de Durango. Se les explicó a las personas ampliamente en que consistía su participación y una vez que aceptaron se continuó a realizarles una historia clínica dirigida en la cual se registró dirección de casa, trabajo y teléfonos en los que se les pueden localizar.

Número y tipo de seguridad social. Además de antecedentes heredo familiares y personales de diagnóstico de diabetes mellitus, hipertensión, cáncer, padecimientos diagnosticados, cirugías realizadas, antecedentes de trauma, hábitos personales de realización de ejercicio, consumo de alcohol y tabaco, consumo de drogas e historia familiar de obesidad.

Una vez terminado el cuestionario se realizaron mediciones antropométricas:

El peso: Se estandarizó en básculas digitales marca Nuevo León modelo 2001, pidiéndole al paciente que subiera a la báscula con ropa ligera y sin zapatos.

La talla: Se midió en el mismo tiempo que el peso en las básculas digitales marca Nuevo León modelo 2001, colocando al sujeto participante de espalda y con el occipucio en contacto con el estadímetro y sin zapatos.

La presión arterial: Se tomó usando baumanómetros semiautomáticos marca OMRON, aprobados por la Federación Drogas Americana. Se le pidió al sujeto se sentara durante 5 minutos y colocara el antebrazo en el escritorio, quedando el manguito del baumanómetro a nivel del corazón y el sensor en el área de la arteria braquial izquierda.

Circunferencia de cintura: Se midió colocando al paciente de frente, localizando la cicatriz umbilical, y rodeando con la cinta métrica de plástico la circunferencia de la cintura. Se marcó en centímetros.

Circunferencia de cadera: Al igual que la medición de la cintura pero a nivel de crestas iliacas. Registrándose en centímetros.

Al término de las mediciones se pasó al paciente al cubículo de toma de muestra para tomarle sangre de vena ante cubital, verificando tuviera ayuno de 8-12 horas. Se colectó 5 ml de sangre venosa en tubos sin anticoagulante para la determinación de glucosa, HDL-Colesterol y Triglicéridos, encubando las muestras sanguíneas durante 15 minutos, para retracción del coágulo y posteriormente centrifugarse a 3000 r.p.m. durante 10 minutos. Después se extrajo el suero y colocándose en tubos Eppendorf de 1 ml. Se prepararon los reactivos para glucosa, colesterol HDL-colesterol, y triglicéridos,

se analizaron en el equipo de clínica química marca DATA PRO. Reportándose los resultados en mg/dl.

Para la muestra de Hcto se tomaron 3ml en tubo con anticoagulante, pasándose a tubos capilares, y llevándolos a la microcentrifuga a 1500/rpm durante 3 minutos, y posteriormente midiéndose en forma manual en una regla marca SOL-BAT. Registrándose en porcentaje.

A los pacientes que presentaron cifras de glucosa $>110\text{mg/dl}$ se les realizó curva de tolerancia a la glucosa. Colectando una muestra sanguínea con el paciente en ayuno de ayuno de 8 a 12 hs, enseguida se le dio por vía oral, 75 g de glucosa disuelta en 150 ml de agua, la cual ingirieron en un lapso no mayor de 5 minutos; a partir del cual se marcó el tiempo para realizar una nueva toma sanguínea a las 2 horas, se le pidió al sujeto mantenerse sentado durante la prueba, sin fumar. Se procesaron las muestras con el método anteriormente descrito para determinación de glucosa.

A los pacientes en quienes se detectó alguna anomalía en sus resultados, se les orientó y explicó el problema de salud detectado, y se les envió con su médico familiar a tratamiento.

Análisis estadístico clínico

Las diferencias entre los grupos fueron calculados usando la prueba no pareada de t Student y la prueba de Chi-cuadrada. El análisis de Pearson fue realizado para examinar la correlación entre MAP y Hcto. Para este propósito de análisis estadístico, todos los datos numéricos fueron transformados a su Log n, para obtener una distribución simétrica.

Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico SPSS 12.0 (SPSS Inc., Illinois USA 1998). Un intervalo de confianza de 95% ($CI_{95\%}$) y un valor de $p < 0.05$ fueron considerados para definir la significancia estadística.

Aspectos éticos

Por el diseño del estudio y variables a estudiar se consideró que no existían consideraciones éticas que conlleven riesgo para los participantes. Se contó con la aceptación de participación informada y voluntaria de los sujetos participantes.

La información fue manejada en base a los criterios de estricta confidencialidad.

Resultados

Los pacientes reclutados dentro del estudio fueron 103 sujetos sanos en el grupo control y 129 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2. La tabla 1 resume los datos de estas poblaciones. Los pacientes con diabetes mellitus fueron de mayor edad que los sujetos sanos (52.3 ± 9.9 vs. 46.6 ± 11.3 años <0.001). El tiempo de evolución de la diabetes fue de 12.4 ± 5.2 años. La HbA1c fue tomada para valorar el estado de control de la enfermedad en los últimos 3 meses, encontrándose valores de $9.3 \pm 2.5\%$. Treinta y siete (28.7%) de estos pacientes tenían diagnóstico de hipertensión, con una evolución de 1.4 ± 3.7 años.

No hubo diferencias significativas del Hcto entre los grupos ($43 \pm 4\%$ vs. $43 \pm 5\%$, $p = 0.33$).

Como se esperaba los individuos del grupo control mostraron los niveles de presión sistólica y diastólica menores que las del grupo de personas con diabetes mellitus.

La relación entre la presión arterial y el Hcto de los sujetos sanos se muestra en la figura 1 A con un coeficiente de correlación $R^2 = 0.04$ sin significancia estadística ($p > 0.5$). El mismo análisis realizado con los datos de los pacientes diabéticos (figura 1B) presenta un coeficiente de correlación $R^2 = 0.44$, con una significancia estadística elevada ($p < 0.001$).

Tabla 1: Características de la población de sujetos sanos y pacientes con diagnostico de diabetes mellitus en estudio

| | Diabéticos | Sanos | Valor p |
|-------------------------|-------------------|--------------|----------------|
| Mujer/Hombre, % | 67.4/32.6 | 73/26.2 | ----- |
| Edad, años | 52.3 ± 6.5 | 46.6 ± 11.3 | > 0.001 |
| Presión sistolica mmHg | 125.5±19.2 | 122.6±13.7 | < 0.18 |
| Presión diastolita mmHg | 76.4±13.1 | 73.1±6.7 | < 0.02 |
| Glucosa de ayuno, mg/dl | 213.7 ± 99.3 | 105.1 ± 21.8 | < 0.001 |
| HbA1c, % | 9.3 ± 2.5 | ----- | ----- |
| HDL-colesterol, mg/dl | 42.4 ± 10.3 | 37.9 ± 11.1 | < 0.001 |
| Triglicéridos, mg/dl | 222.9 ± 139.0 | 171 ± 95.0 | < 0.001 |
| Hematocrito, % | 43.0 ± 3.5 | 42.0 ± 4.0 | < 0.05 |

Los valores indican Media ± , Desviación estándar.

Figura 1 A

Distribución de la presión arterial media sanguínea en función del hematocrito en sujetos sanos.

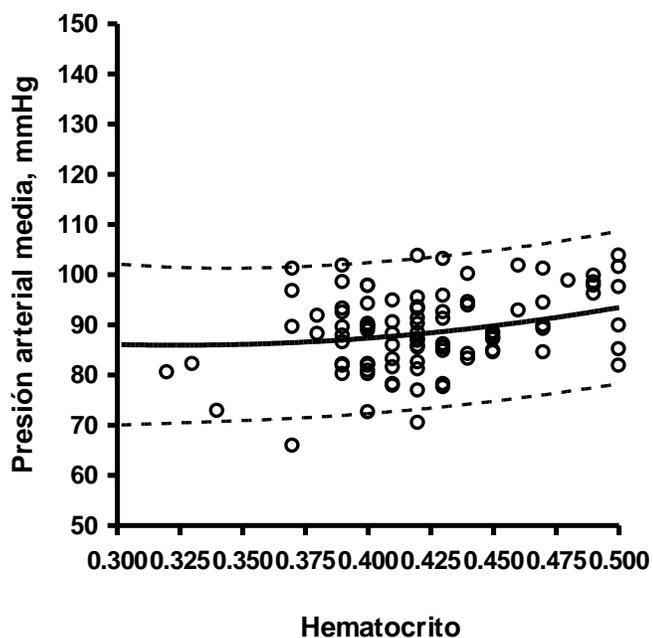
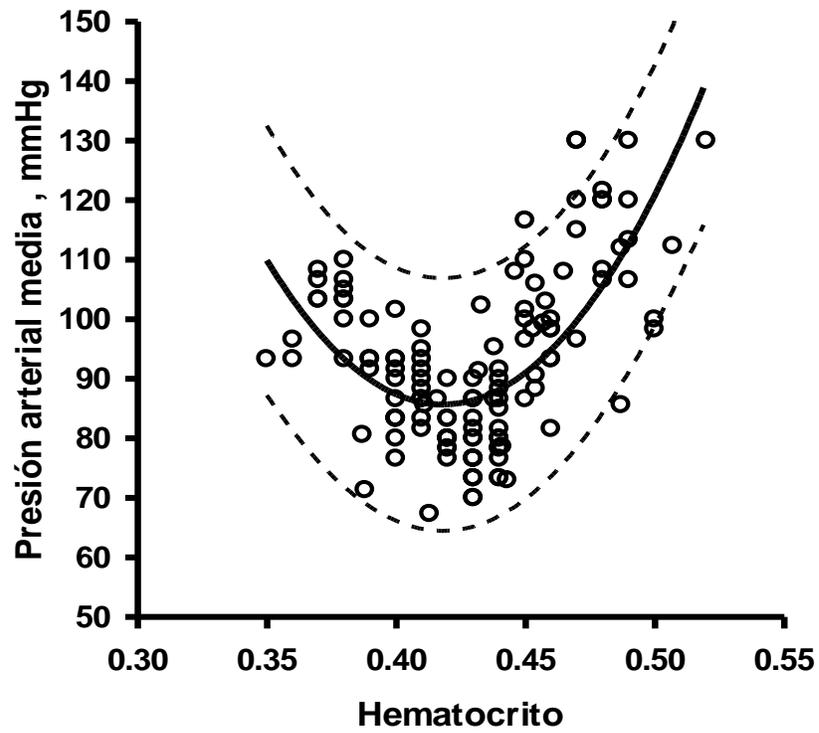


Figura 1 B

Distribución de la presión arterial media en función del hematocrito pacientes con diagnostico de diabetes mellitus.



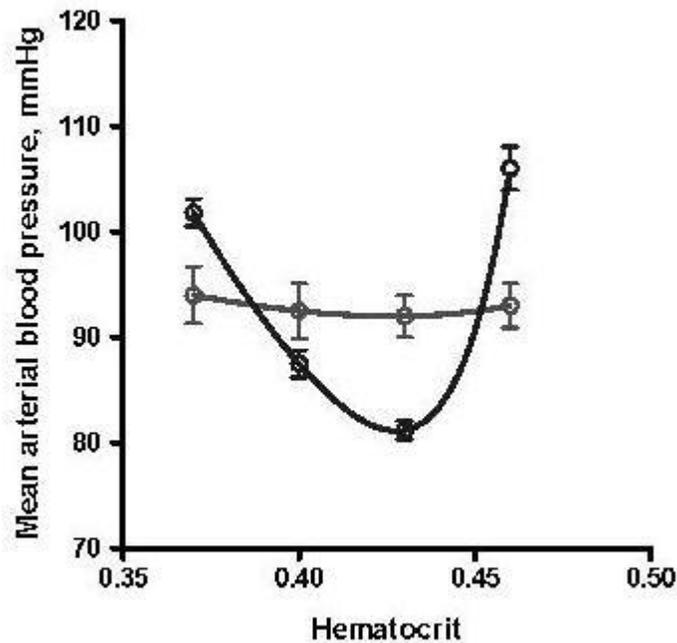
CAPÍTULO 3

Discusión de hallazgos clínicos

Los principales hallazgos de este estudio muestran que mientras la distribución de la Presión Media Arterial (MAP) en los sujetos sanos parece ser esencialmente independiente del Hcto, los pacientes diabéticos presentan una tendencia con distribución bimodal, con un mínima presión sanguínea a el Hcto entre 40 y 45% encontrado en la población (Figura 1B), esta tendencia es estadísticamente significativa. De manera similar puede ser vista en los datos de Natali et al., 2005 (80), aunque estos autores no analizan la correlación entre la presión y el Hcto para el conjunto de datos (Figura 2).

La población control mostró una relación directamente proporcional en la cual la MAP se incrementa ligeramente conforme aumenta el Hcto. La falta de efectos pronunciados en la presión sanguínea debido a la variación del Hcto en individuos normales podría ser atribuible a la capacidad de la circulación para compensar los cambios en la viscosidad sanguínea y consecuentemente compensar la variabilidad natural del Hcto y el shear stress, a través de la variación en la producción de NO, que modula la vasodilatación. Presumiblemente, cuando el Hcto esta debajo de lo normal, el shear stress esta disminuido, y decrese la producción de NO, causando vasoconstricción, la cual es compensada por la baja viscosidad sanguínea. Considerando que estos efectos podrian estar superpuestos a los efectos de los baroreceptores y otros mecanismos que regulan la presión sanguínea, no son sorprendentes los hallazgos en los individuos sanos respecto a la relacion entre la presión arterial y el Hcto.

Figura 2: Distribución de la presión media sanguínea en función del hematocrito de acuerdo al los datos reportados por Natali et al. Comparación con el presente estudio.



Los sujetos con diagnóstico de diabetes mellitus presentaron cambios pronunciados en la MAP en función del Hcto cuando fueron comparados con los controles. La MAP se encontró significativamente baja cuando el Hcto aumentó. Estos resultados tienen la misma tendencia que los encontrados por Martini et al. (79), cuando el Hcto fue cambiado agudamente en animales experimentales. En este caso la respuesta sanguínea podría ser directamente ligada a la producción de NO por el endotelio, y a los cambios en el shear stress. El presente estudio es transversal y no representa la respuesta a los cambios en el Hcto, pero como la presión se correlaciona con el Hcto, esta es una condición estática en el tiempo para los individuos que presentan un Hcto dado. Martini et al. (79) encontraron significancia estadística comparando los cambios en la MAP vs. cambios en el Hcto inducidos por exanguíneo transfusión. Dado que en el estudio de Martini y en este las variables independiente y dependiente son las mismas, y existe una respuesta similar, sugiere que los mecanismos mediados por el NO están implicados.

Generalmente se acepta que la diabetes presenta disminución en la formación de vasodilatadores tales como NO y prostaciclina e incrementa la formación de vasoconstrictores eicosanoides. Este concepto está bien establecido en la literatura desde el estudio de Calver et al., 1992, quien encontró que los pacientes diabéticos presentan respuestas endoteliales reducidas al flujo sanguíneo en el brazo al infundir localmente L-NMMA y SNP. Natali et al., 2005 (80), recientemente confirmaron estos hallazgos. Sin embargo esta interpretación puede no ser definitiva, y puede también ser debida al incremento de la síntesis del NO, lo que requeriría incrementar la dosis de L-NMMA para causar las reducciones esperadas en las respuestas, un concepto que fue reconocido por Calver et al. Aunque algunos estudios indican que la diabetes implica una baja disponibilidad de NO, Cosentino et al., 1997, ejemplifica lo contrario y mostraron que los niveles altos de glucosa incrementan la expresión de NOS y el anión superóxido generado en humanos dentro de las células aórticas endoteliales, y Chiarelli et al., 2000 (95), reportó el incremento de la disponibilidad de NO en pacientes jóvenes con diabetes tipo I.

Nuestros resultados sugieren que la respuesta endotelial al shear stress permanece inalterada en los pacientes diabéticos y que la falta de regulación de la presión sanguínea vs. Hcto no está relacionada a la inhibición de la producción NO, y por lo tanto esto es debido a mecanismos no endoteliales de la autorregulación de la presión sanguínea. Nuestra hipótesis es que los individuos normales regulan la presión sanguínea independientemente del Hcto, mientras que los diabéticos presentan una excesiva reducción en la presión arterial media sanguínea dentro del rango de Hcto (0.35 a 0.43). Así, en el estudio de Martini et al., la reducción significativa de presión sanguínea correspondiente al incremento del Hcto (Figura 3A) puede ser explicada por una reducción en la resistencia vascular periférica debido al incremento de la viscosidad dependiendo de la vasodilatación mediada por liberación de vasodilatadores y principalmente por el NO endotelial.

Los resultados encontrados para el incremento en la presión sanguínea en pacientes en quienes el Hcto es >0.43 deberían reflejar la condición en la cual la vasodilatación no es capaz de contrarrestar el incremento en la resistencia vascular debido al incremento en

la viscosidad sanguínea. La Figura 3B muestra el incremento en la presión sanguínea como función de Hcto. Estos datos pueden ser trazados por una línea recta y la correlación es estadísticamente significativa. Asumiendo que los cambios en la MAP reflejan el incremento en la resistencia vascular periférica debido al incremento de la viscosidad sanguínea, podemos estimar los cambios correspondientes en la presión sanguínea desde la existencia de datos relacionada al Hcto y la viscosidad sanguínea (96). Esta relación es aproximadamente lineal para en el rango de Hcto en consideración y está mostrada en la Figura 3B. Es notable que la presión sanguínea aumente más rápidamente de lo que pueda atribuirse solamente al efecto de la viscosidad sanguínea, indicando que puede haber parámetros adicionales que influyen la presión sanguínea en los pacientes diabéticos.

Figura 3 A

Distribución de la presión arterial media en función del hematocrito para pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus con bajo hematocrito.

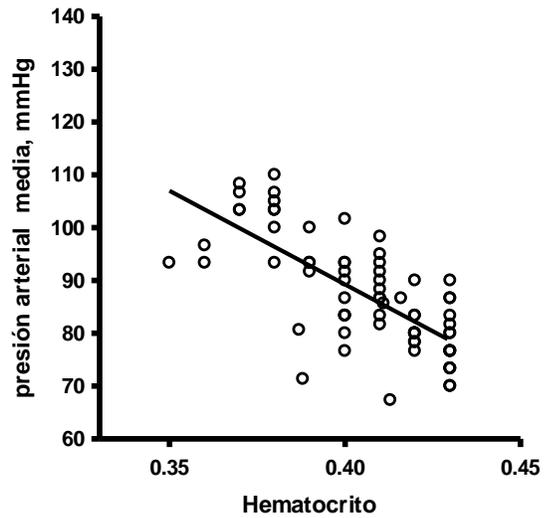
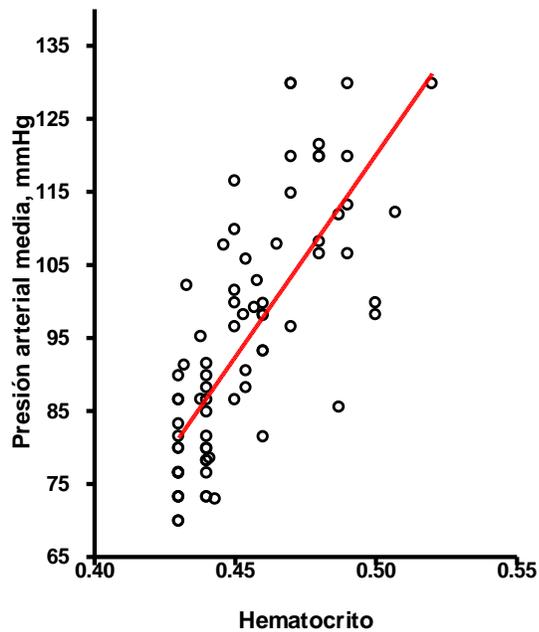


Figura 3 B

Distribución de la presión arterial media en función del hematocrito para pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus con hematocrito en el rango "optimo".



Una explicación alternativa es que estos pacientes presentan una capacidad disminuida a la vasodilatación en respuesta al estímulo relacionado de NO.

Nuestro estudio y el de Martini et al. (79), muestran que la dilatación dependiente del endotelio en los pequeños vasos está directamente relacionada al Hcto, es decir el aumento del Hcto aumenta el shear stress y por lo tanto la producción de vasodilatadores producidos por el endotelio, lo que es aplicable solo dentro de un rango de Hcto. Fuera de este rango se produce el efecto opuesto, y el aumento de Hcto aumenta la resistencia vascular periférica. Este hallazgo sugiere que existe un “Hcto óptimo” particularmente en el caso de los pacientes diabéticos. Nuestros hallazgos sugieren que la población de pacientes diabéticos tiene un “Hcto óptimo” que está asociado a la presión sanguínea. Considerando que la hipertensión es un factor de riesgo en la diabetes, estos hallazgos sugieren que el control del Hcto puede ser un factor adicional en el tratamiento de la diabetes, lo que podría favorecer el decremento en el desarrollo de complicaciones relacionadas a la hipertensión.

Conclusiones

En el presente estudio determinamos la relación entre presión sanguínea y Hcto en adultos sanos y pacientes diabéticos, encontrando la existencia de una relación en forma de U entre estas variables. Suponemos que la variabilidad en el Hcto es independiente de la condición básica de la enfermedad. Los cambios en el Hcto tanto que ocurren naturalmente permiten determinar si los pacientes diabéticos presentan cambios en la respuesta endotelial al shear stress, un factor determinante para la producción de materiales derivados del endotelio. Dado la fuerte correlación negativa entre la MAP y el Hcto, concluimos que la explicación más probable de estos hallazgos es la presencia de una respuesta endotelial normal a los diferentes niveles de shear stress en la circulación determinada por los diferentes Hctos. Por lo tanto mientras la diabetes puede estar asociada con la disfunción endotelial en términos de la respuesta vascular a Ach y SNP, las respuestas a la mecano transducción parecen estar no alteradas. Consecuentemente proponemos que la tendencia encontrada muestra que en los pacientes diabéticos faltan los mecanismos regulatorios que hacen a la MAP independientemente del Hcto como se observo. Finalmente nuestros hallazgos sugieren que los pacientes diabéticos deberían esforzarse en alcanzar un “Hcto óptimo” y así disminuir los factores de riesgo cardiovascular.

La diabetes presenta complicaciones reológicas manifestadas tanto en la viscosidad del plasma y la viscosidad de la sangre. Hasta hace poco tiempo se consideraba que la relación entre viscosidad de la sangre, el plasma y la patología derivada era primariamente relacionadas al efecto de la viscosidad sanguina sobre la resistencia vascular periférica, con consecuencias sobre la regulación de la presión de la sanguínea y la perfusión del tejido. El reciente reconocimiento que el shear stress es un importante mediador de la producción de oxido nítrico (NO) cambio fundamentalmente esta idea, dado que la viscosidad de la sangre es un determinante del shear stress, y por lo tanto de la produccion de NO, con directos resultados sobre la regulación cardiovascular (84-89).

Los resultados clínicos de este estudio muestran que la diabetes altera el mecanismo por el cual la presión de la sangre es regulada en respuesta al shear stress cuando la población afectada es investigada prospectivamente. Notablemente se presentan dos regímenes de reacción al shear stress, por el cual a viscosidades relativamente bajas y presumiblemente bajo shear stress, la respuesta de la presión arterial es conforme a la hipótesis que aumentando shear stress resultara aumentada la producción de NO y aumentada vasodilatación y por lo tanto reducción de la presión sanguínea. Esta respuesta se revierte luego de alcanzar una presión mínima, evidente al denominado "hematocrito optimal".

Esta segunda respuesta es mas pronunciada debido solo al aumento de la resistencia vascular periférica, lo que presupone la existencia de otros factores.

Es ahora evidente que el shear stress no es solo dependiente de la velocidad de flujo y la viscosidad de la sangre, si no también requiere un mecanismo de transmisión de su nivel al mecanismo interno de las células endoteliales que produce NO. Un mecanismo importante en este proceso es la presencia de un glicocalix intacto, siendo este sistema de moléculas de azúcares uno de los principales mediadores de la transmisión de información entre la sangre y la membrana endotelial (91,93).

El daño al glicocalix producido por la hiperglicemia y la diabetes empieza a ser reconocido en varios estudios. En particular hay significativa evidencia que este daño interfiere con la producción de NO (89, 90,92).

Es interesante notar que la resistencia a la insulina esta asociada con el estímulo de la generación de glóbulos rojos y el aumento de marcadores de inflamación, indicando la presencia de un componente de la diabetes que lleva al aumento del hematocrito. Por otra parte la disminución del glicocalix esta probablemente también en función de la severidad de la enfermedad. Esto nos lleva a la hipótesis que el Hcto alto, es una manifestación de la severidad de la enfermedad, y sus consecuentes daños, que en parte también se manifiestan por la reducción de la respuesta de la producción de NO al aumento de shear stress (95,96,94).

CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS DE INVESTIGACION

La diabetes y la hipertensión arterial afectan grandes segmentos de la población. La resistencia periférica depende del diámetro de los vasos y de la viscosidad sanguínea que afecta la perfusión del tejido. Algunos estudios demuestran que el incremento en la viscosidad sanguínea está asociado a un aumento de la presión arterial; sin embargo, contradictoriamente los residentes de ciudades localizadas en grandes alturas que presentan incremento en el hematocrito y viscosidad sanguínea como fenómeno adaptativo, presentan presión arterial reducida.

El mecanismo subyacente a este fenómeno es probablemente relacionado al incremento de la tasa de corte (shear stress) provocado por el elevado Hcto que ejerce mayor fricción sobre las paredes del vaso, lo que a su vez libera sustancias vasorelajantes como el NO.

El NO es un poderoso vasorelajante y que también disminuye las moléculas de inflamación endotelial.

Este estudio investiga la relación entre Hcto y MAP en sujetos diabéticos. Se demuestra que hay un Hcto óptimo, y que el bajo y el alto Hcto son hipertensivos.

Se demuestra también que esta des-regulación sistémica no esta presente en el sujeto sano. Por lo tanto estos estudios proponen que una componente importante del diagnostico del individuo diabético, es la determinación del Hcto. Su control a valores que este estudio muestra estar relacionados con una MAP optima será una estrategia terapéutica para investigar.

La diabetes involucra la desregulación del metabolismo del azúcar, un componente molecular es el glicocalix. Este estrato molecular, posicionado entre los glóbulos

rojos y la pared celular es donde la tasa de corte y la hemoglobina determinan el balance de la biodisponibilidad de NO y es crítico en la regulación circulatoria en la diabetes.

Por lo tanto estos estudios proponen que la bioquímica del glicocalix es directamente relacionada con la regulación cardiovascular de la diabetes. El hallazgo que la disminución del glicocalix disminuye el número de capilares funcionales, y por lo tanto la superficie involucrada en la generación y barrido de NO refuerza la hipótesis que el diabetes está directamente relacionado a un daño microvascular, y propone a su vez que terapias tendientes a reparar el glicocalix puedan revertir en parte las patologías de la diabetes.

Los próximos estudios estarán dirigidos a establecer el significado diagnóstico del hematocrito en la evolución de enfermedades derivadas de la disfunción endotelial.

Bibliografía

- 1) Organización Mundial de la Salud, septiembre 2011, nota 312
- 2) Fangall G. Prevención primaria de la diabetes mellitus. PAC Endocrino.2001,1:242-249.
- 3) Manfred Ganz .Prevention of Type 2 Diabetes. Edit. John Wiley and Son, 2005,1:1-3.
- 4) Secretaría de Salud, México, Dirección General de Epidemiología , 2011.
- 5) Simon Barquera, Diabetes in Mexico: cost and management of diabetes and its complications and challenges for health policy, Globalization and Health 2013, 9:3
- 6) Zimmet P, Dowse G, Finch C, Serjeantson S, Kin H. The epidemiology and natural history of NIDDM-lessons from the South Pacific. Rev Diabetes Metab 1990;6:91-124.
- 7) Zimmet P, Taylor R, Ramp P, King H, Sloman G, Raper LR, Hunt D. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in the by racial (Melanesian and Indian) population of Fiji: a rural- urban comparison. Am J Epidemiol 1983;118:673-688.
- 8) Jakson WPU. Epidemiology of diabetes in South Africa. Adv Metab Disord 1978;9:111-146.
- 9) Dowse GK, Gaareeboo H, Zimmet PZ, Alberti KGMM, Tuomilehto J, Fareed D, Brissonette LG, Finch CF. For the Mauritius Non communicable Disease Study Group: High prevalence of NIDDM impaired glucose tolerance in Indian Creole and Chinese Mauritians. Diabetes 1990;39:390-396.
- 10) McKeigue PM, Marmot MG, Syndercombe Court YD, Coitter DE, Rahman S, Riemersma RA. Diabetes hyperinsulinemia and coronary risk factors in Bangladeshis in East London, Br Heart J 1998;60:390-396.
- 11) Knowler WC, Pettitt Dj, Saad MF, Bennett PH. Diabetes pathogenesis. Rev Diabetes Metab1990;6:1-27.
- 12) Stern MP, Haffner SM. Type II diabetes and its complications in Mexican Americans. Rev Diabetes Metab 1990;6:29-45.
- 13) Fujimoto WY, Bergstrom RW, Newell. Morris LL, Leonetti DL. Nature and Nurture in the etiology of type 2 diabetes mellitus in Japanese Americans. Rev Diabetes Metab 1989;5:607-256.
- 14) Standards of Medical Care in Diabetes 2013, American diabetes association , 2013.
- 15) Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in the U:S population aged 20-74 yr. Diabetes 1987;36:523-534.
- 16) Zimmet PZ. Primary prevention of diabetes mellitus. Diabetes Care 1988;11:258-262.
- 17) Guerrero Romero F, Rodríguez Morán Martha. Diabetes mellitus: un análisis de mortalidad por causa básica. Rev Med IMSS1996;34,43-48.
- 18) Islas Andrade S, Revilla Monsalve MC. El laboratorio clínico; su utilidad en el paciente con diabetes mellitus. Diabetes Mellitus. McGraw-Hill Interamericana 2a edición; México D.F.12:139-161.
- 19) González Ortiz M, Martínez Abundis E. Diabetes Mellitus. McGraw-Hill Interamericana 3a edición; México D.F.10:203-214.

- 20) Consenso Mexicano sobre el Tratamiento Integral del Síndrome Metabólico. *Rev Mex Cardiol* 2002;13:4-30.
- 21) Lena Vega G. Results of Expert Meetings: Obesity and Cardiovascular Disease. *Am Heart J* 2001; 142:1108-16.
- 22) Chen W, Srinivasan SR, Elkasabany A, Berenson GS. Cardiovascular risk factors clustering features of insulin resistance syndrome (Syndrome X) in a biracial (Black-White) population of children, adolescents, and young adults: the Bogalusa Heart Study. *Diabetes* 2000;49:1042-8.
- 23) Vargas Ancona L. Obesidad en México, Fundación Mexicana para la salud, A.C.1998;1:5-8.
- 24) Pi-Sunyer XF(ed) Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults – The evidence report. *Obes Res* 1998;6:51s-210s.
- 25) Plankey MW, Stevens J, Flegal KM: Prevention equations do not eliminate systematic error in self – reported body mass index. *Obes Res* 1997; 5:308-314.
- 26) Allison DB, Faith MS, Heo M. Meta- analysis of the effect of excluding early deaths on the estimated relationship between body mass index and mortality. *Obes Res* 1999,7 :342-354.
- 27) Bonora ES, Del Prato S, Bonadonna RC: Total body fat content and fat content topography are associated differently with in vivo glucose metabolism in no obese and obese non diabetic woman. *Diabetes* 1992; 41:1151-1159.
- 28) Pouliot M, Despres JP, Nadeau A. Visceral obesity in men: Associations with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoproteins levels. *Diabetes* 1992,41:826-834.
- 29) Rissanen J, Hudson R, Ross R. Visceral adiposity, androgens, and plasma lipids in obese men. *Metabolism* 1994, 43:1318-1323.
- 30) Abane N, Garg A, Peshock RM: Relationships of generalized and regional adiposity to sensitivity in men. *J Clin invest* 1995,96:88-98.
- 31) Marcus MA, Murphy L, Pi-Sunyer X: Insulin sensitivity and serum triglyceride level in obese white and black women: Relationship to visceral and truncal subcutaneous fat. *Metabolism* 1999;48:194-199.
- 32) De Fronzo RA: The effect of insulin on renal sodium metabolism: A review with clinical implications. *Diabetologia*1981, 21:165-171.
- 33) Scherrer U, Randin D, Vollenweider P: Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J Clin Invest* 1994, 94:2511-2515.
- 34) Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A: Insulin-mediated skeletal muscle vasodilatation is nitric oxide dependent. *J Clin Invest*1994, 94:1172-1179.
- 35) Davda RK, Stepniakowski K, Lu G: Oleic acid inhibits endothelial nitric oxide synthase by a protein kinase C-independent mechanism. *Hypertension* 1995, 26:764-770.
- 36) Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, et al. Hyperlipidemia in coronary heart disease, genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia . *J Clin Invest* 1973; 52:1544-68.
- 37) Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999,340:115-126.

- 38) Douglas B. Cines, Eleanor S. Pollak, Clayton A. Buck, Joseph Loscalzo, Guy A. Zimmerman, Rodger P. McEver, Jordan S. Pober, Timothy M. Barbara A. Konkle, Bradford S. Schwartz, Elliot S. Barnathan, Keith R. McCrae, Bruce A. Hug, Ann-Marie Schmidt David M. Stern. Endothelial Cells in Physiology and in the Pathophysiology of Vascular Disorders. *Blood* 1998; 91:3527-3561.
- 39) Glagov S, Zarins C, Giddens DP, et al: Hemodynamics and atherosclerosis: Insights and perspectives gained from studies of human arteries. *Arch Pathol Lab Med* 112:1018-1031, 1988.
- 40) Gong KW, Zhu GY, Wang LH, et al: Effect of active oxygen species on intimal proliferation in rat aorta after arterial injury. *J Vasc Res* 1996; 33:42-46.
- 41) Liao F, Andabali A, Qiao JH, et al: Genetic evidence for a common pathway mediating oxidative stress, inflammatory gene induction, and aortic fatty streak formation in mice. *J Clin Invest* 94:877-884, 1994.
- 42) Steinberg D: Antioxidants and atherosclerosis: A current assessment. *Circulation* 1991; 84:1420-1425.
- 43) John Y.-J, Shyy, Shu. Role of Integrins in Endothelial Mechanosensing of Shear Stress. *Circulation Research* 2002;1:769-775.
- 44) Irace C, Cortese C, Carallo C, Farinaro E, Gnaso A. Wall Shear Stress Is Associate With Intima Media Thickness and Carotid Atherosclerosis in Subjets at Low Coronary Heart Disease Risk. *Stroke* 2004,35:464.
- 45) Oren Traub, Bradford C. Berk. Laminar Shear Stress Mechanisms by WICH endothelial Cells Transduce an Atheroprotective Force. *Arterioscler Thromb* 1998;18:677-685.
- 46) Yinong Jian, Katsuhiko Kohara, Kunio Hiwada. Association Between Risk Factors For Atherosclerosis and Mechanical Forces in Carotid Artery. *Stroke* 2000; 31: 2319-2324.
- 47) Gross ER, LaDisa JF, Weihrauch D, Olson LE, Kress TT, Hettrick DA, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Reactive oxygen species modulate coronary wall shear stress and endothelial function during hyperglycemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003,23:1552-1559.
- 48) Guerrero Romero F, Rodríguez Morán Martha. Inflamación y diabetes. *Diabetes Mellitus*. McGraw-Hill Interamericana 3a edición; México D.F. 10:203-214.
- 49) V Lahera E Cediél, N de las Heras, S Vázquez Pérez, D Sanz-Rosa, B Vázquez-Cruz, V Cachofeiro. Alteraciones del endotelio en la hipertensión. *Nefrología* 2003,4:3-12.
- 50) Schnyder B, Pittet M, Durand J, Schnyder CS. Rapid effects of glucose on the insulin signalling of endothelial NO generation and epithelial Na transport. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002,282:87-94.
- 51) Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany* 2003,91:179-194.
- 52) Kingwell BA. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: Effects of training in health and cardiovascular disease. *The FASEB Journal* 2000, September,14:1685-1696.
- 53) Hare MJ. Nitroso –Redox Balance in the cardiovascular System. *N Engl J* 2004,8:2122-2114.
- 54) Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, Hasche H, Lobisch M, Scutte K, Kurum G, Malesa R. Treatment of Symptomatic Diabetic Polyneuropathy With the Antioxidant α Lipolic Acid. *Diabetes* 1999,22:1296-1301.

- 55) Barzilay IJ, Abraham L, Heckbert SR, Cushman M, Kuller LH, Resnick HE, Tracy RP. The Relation of Markers of Inflammation to the Development of Glucose Disorders in the Elderly. *Diabetes* 2001;50:2384-2389.
- 56) Gros ER, La Disa JF, Weihrauch D, Olso LE, Kress TE, Hettrick Da, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Reactive oxygen species modulate coronary wall shear stress and endothelial function during hyperglycemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;23:1552-1559.
- 57) Salas A, Panés J, Elizalde JI, Casadevall M, Anderson DC, Granger DN, Piqué JM. Mechanics responsible for enhanced inflammatory response to ischemia-reperfusion in diabetes. *AJP- Heart* 1998;275:1773-1781.
- 58) Actis Dato SM, Rebolledo OR. La glicación y glicoxidación de las lipoproteínas su importancia en la diabetes mellitus. *Medicina Buenos Aires* 2000;60:645-656.
- 59) Villa –Caballero L, Nava Ocampo A, Frati-Munary AC, Ponce-Monter H. El estrés oxidativo ¿es necesario medirlo en el paciente diabético? *Gac Med Mex* 200;136:249-255.
- 60) Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet. Méx* 2002;33:261-283.
- 61) Halliwell B. Free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994;344:721-724.
- 62) Rodríguez Perón JM, Menéndez López Jr, Trujillo López Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cuban Med Milit* 2001;30:36-44.
- 63) Witt C, Schäfer C, von Bismark P, Bolz SS, Pohl U. Elevation of plasma viscosity induce sustained NO-mediated dilation in the hamster cremaster microcirculation in vivo. *Pflügers Arch* 1997;434:354-361.
- 64) Koenig W, Ernst E. The possible role of hemorheology in atherotrombogenesis. *Atherosclerosis* 1992;94:93-107.
- 65) Lowe GDO. Blood rheology in arterial disease. *Clin Science* 1996;71:138-146.
- 66) Boisseau MR Are rheological markers of poor prognosis present in diabetic arteriopathies?. *J Maladies Vasculaires* 2001;26:117-121.
- 67) McMillan DE, Utterback NG, Stocki J. Low Shear rate viscosity in diabetes. *Biorheology* 1980;17:355.
- 68) Hodabandehlou T, Zhao H, Vimeux M, Aouane F, Le Devehat C. Haemorheological consequences of hyperglycemic spike in healthy volunteers and insulin-dependent diabetics. *Clin Hemorheol Microcirc* 1998;19:105-14.
- 69) Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E et al. Association of plasma fibrinogen level and blood pressure with diabetic retinopathy, and renal complications associated with proliferative diabetic retinopathy, in Type 2 diabetes mellitus. *British Diabetic Association. Diabetic Medicine* 1999;16:522-6.
- 70) Frost RJ, Otto C, Gaiss HC, Schwandt P, Parhofer KG. Effects of atorvastatin versus fenofibrate on lipoprotein profiles, low-density lipoprotein sub-fraction distribution, and hemorheologic parameters in type 2 diabetes mellitus with mixed hyperlipoproteinemia. *Am J Cardiol* 2001;87:44-48.

- 71) Lawall H, Angelkort B. Correlation between rheological parameters and erythrocyte velocity in naifold capillaries in patients with diabetes mellitus. *Clin Hemorheol Microcircu* 1999;20:41:41-7.
- 72) Göbel BO, Schulte-Gobel A, Weisser B, Glanzer K, Vetter H and Dusing R. Arterial blood pressure. Correlation with erythrocyte count, hematocrit and hemoglobin concentration. *Am J Hypertension*. 4:14-19, 1991.
- 73) Zannad F and Stoltz JF. Blood rheology in arterial hypertension. *J Hypertens Suppl*. 10:S69-78, 1992.
- 74) Letcher RL, Chien S, Pickering TG and Laragh JH. Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects. Role of fibrinogen and concentration. *Am. J. Med*. 70:1195-1202, 1981.
- 75) Danesh J, Collins R, Peto R and Lowe GD. Haematocrit, viscosity, erythrocyte sedimentation rate: meta-analyses of prospective studies of coronary heart disease. *Eur Heart J*. 21: 515-520, 2000.
- 76) Amin MG, Tighiouart H, Weiner DE, Stark PC, Griffith JL, MacLeod B, Salem DN and Sarnak MJ. Hematocrit and left ventricular mass: the Framingham Heart study. *J Am Coll Cardiol*. 43: 1276-1282, 2004.
- 77) Fazio M, Bardelli M, Cominotto F, Fiammengo F, Fabris B, Fischetti F, Candido R, Pascasio L, Lapasin R and Carretta R. Haemoconcentration, shear-stress increase and carotid artery diameter regulation after furosemid administration in older hypertensives. *Experimental Gerontology*. 36:571-581, 2001.
- 78) Simone de G, Devereux RB, Chinali M, Best LG, Lee ET and Welty TK. Association of blood pressure with blood viscosity in American Indians. The strong heart study. *Hypertension*. 45: 625-630, 2005.
- 79) Martini J, Carpentier B, Chavez Negrete A, Frangos JA and Intaglietta M. Paradoxical hypotension following increased hematocrit and blood viscosity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 289:H2136-2143, 2005.
- 80) Natali A, Toschi E, Baldeweg S, Casolaro A, Baldi S, Sironi AM, Yudkin JS and Ferrannini E. Haematocrit, type 2 diabetes, and endothelium-dependent vasodilatation of resistance vessels. *Eur Heart J*. 26:464-471, 2005.
- 81) Nieuwdorp M, Meuwese MC, Vink H, Hoekstra Joost B.L, J.P Kastelein J, Stroes Erick S>G. The endothelial glycocalix: a potencial barrier between health and vascular disease. *Curr Opin Lipidol* 16:507-511,2005.
- 82) Zuurbier C.J, Demirci C, Koeman A, Vink Hans, Ince C. Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalix permeability and acutely decreases lineal density of capillaries with flowing red blood cells. *J Appl Physiol* 99:1471-1476,2005.
- 83) Pries A.R, Secomb T.W, Gaehtgens P. The endothelial surface layer. *Eur J Physiol* 440:653-666,2000.
- 84) Le Devehat, C., Vimeux, M., Khodabandehlou, T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus. *Clin. Hemorheol. Microcirc*. 30:297-300, 2004.

- 85) Gnasso A, Carallo C, Irace C, De Franceschi MS, Mattioli PL, Motti C, Cortese C. Association between wall shear stress and flow-mediated vasodilation in healthy men. *Atherosclerosis* 156:171-6, 2001.
- 86) Furchgott RF and Zawadski JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376, 1980.
- 87) Vallance P, Collier J, and Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 2: 997-1000, 1989.
- 88) Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 75: 519-560, 1995.
- 89) Nieuwdorp M, van Haeften TW, Gouverneur MC, Mooij HL, van Lieshout MH, Levi M, Meijers JC, Holleman F, Hoekstra JB, Vink H, Kastelein JJ, Stoes ES. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes*. 2006 Feb;55(2):480-6.
- 90) Algenstaedt P, Schaefer C, Biermann T, Hamann A, Schwarzloh B, Greten H, Ruther W, Hansen-Algenstaedt N: Microvascular alterations in diabetic mice correlate with level of hyperglycaemia. *Diabetes* 52:542–549, 2003
- 91) Weinbaum S, Zhang X, Han Y, Vink H, Cowin SC: Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:7988–7995, 2003
- 92) Mochizuki S, Vink H, Hiramatsu O, Kajita T, Shigeto F, Spaan JA, Kajiya F: Role of hyaluronic acid in shear induced endothelium derived nitric oxide release. *Am J Physiol* 285:H722–H726, 2003
- 93) Florian JA, Kosky JR, Ainslie K, Pang Z, Dull RO, Tarbell JM: Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells. *Circ Res* 93:e136–e142, 2003.
- 94) Ellinger, V.C.M. Carlini, L.T., Moreira, R.O., Meirelles, R.M.R. Relation between insulin resistance and hematological parameters in a Brazilian sample *Arq Bras Endocrinol Metab* 50(1):114-117,2006
- 95) Bersch N, Groopman JE, Golde DW. Natural and Biosynthetic insulin stimulates the growth of human erythroid progenitors in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 55:1209-11.
- 96) Kurtz A, Selkman W, Bauer C. Insulin stimulates erythroid colony formation independently of erythropoietin. *Br J Haematol* 1983;53:311-6.