

# ¿Afecta el grado de control metabólico de la diabetes mellitus, a la concentración plasmática de endotelinas?

C. Pavía Sesma, A. Leivas López\*, R. Velasco Solorzano, C. Escofet Alcarria\*, C. Valls Tolosa

**Resumen. Fundamento:** Las endotelinas son una familia de péptidos, con una potente acción vasoconstrictora, que pueden jugar un papel importante en la etiología de las complicaciones vasculares de la diabetes.

**Material y métodos:** En el presente trabajo hemos estudiado a 26 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo I, en situación prepuberal, tratados con insulina y con una dieta adecuada a su edad. Tras un período de ayuno de 12 horas, se procedió a la extracción de sangre para la determinación de endotelina (RIA del Instituto Nichols) y hemoglobina glicosilada (HbA1c; Biorad). Los pacientes fueron clasificados: 1) aceptable control, con valores de HbA1c inferiores al 8% y 2) mal control, cuando superaban este valor. Los resultados se compararon a los de un grupo control de niños que consultaron por un retraso de crecimiento de tipo constitucional. El estudio estadístico se ha realizado por medio de las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney y de Wilcoxon, así como el coeficiente de correlación de Spearman.

**Resultados:** En el grupo control, las concentraciones plasmáticas de endotelina fueron de  $4,01 \pm 1,1$  pg/ml ( $x \pm de$ ). En los diabéticos con aceptable control, los valores fueron de  $3,15 \pm 0,62$  pg/ml y de  $3,91 \pm 1,25$  pg/ml en los pacientes con mal control. No se encontraron diferencias estadísticamente valorables entre los grupos.

**Conclusión:** Deducimos que los niveles de endotelina no parecen afectarse por el grado de control metabólico en la diabetes mellitus tipo I. *An Esp Pediatr 1996;45:253-255.*

**Palabras clave:** Endotelinas; Diabetes mellitus; Control metabólico; Diabetes juvenil.

## ARE THE PLASMA LEVELS OF ENDOTHELINS AFFECTED BY THE METABOLIC CONTROL IN TYPE I DIABETES MELLITUS?

**Abstract. Background:** Endothelins are a family of peptides with a potent constriction action that can play a role in the etiology of vascular diabetic complications.

**Patients and methods:** We studied 26 prepubertal patients diagnosed with type I diabetes mellitus and treated by both insulin and dietetic regime. They were analyzed according to their age. A morning blood sample was obtained after 12 hours of overnight fasting for endothelin determination (RIA from Nichols Institute) and HbA1c (Biorad). Patients were classified into two groups: 1) good control, with HbA1c values < 8% and 2) poor control with HbA1c levels > 8%. The control groups was comprised of endocrinologically normal children that consulted the pediatrician for suspected constitutional delay of growth. Statistical analysis was made by means of nonparametric methods and with the Spearman coefficient.

Sección de Endocrinología. Unidad Integrada. Hospital San Juan de Dios. Hospital Clínic. Barcelona

\* Laboratorio Hormonal. Hospital Clínic.

**Correspondencia:** Dr. C. Pavía. Sección de Endocrinología. Unidad Integrada. Hospital San Juan de Dios. Hospital Clínic. Ctra. de Esplugues, s/n. 08034 Barcelona  
Recibido: Mayo 1995

Aceptado: Diciembre 1995

**Results:** In the control group, the plasma concentrations of endothelin were  $4.01 \pm 1.1$  pg/ml ( $x \pm SD$ ). In diabetics with good control, values were  $3.15 \pm 0.62$  pg/ml and  $3.91 \pm 1.25$  in diabetics with poor control. No statistical differences were noted among these groups.

**Conclusions:** We deduce that plasmatic levels of endothelin does not seem to be affected by the metabolic control in patients with type I diabetes mellitus without complications.

**Key words:** Endothelins; Diabetes mellitus; Metabolic control; Juvenile diabetes.

## Introducción

Las endotelinas son una familia de isopéptidos de 21 aminoácidos, secretados por las células endoteliales, que fueron descritas en 1988, a partir del tejido vascular porcino<sup>(1)</sup> y que se conocen como endotelina-1 (ET-1), endotelina-2 (ET-2) y endotelina-3 (ET-3).

Tanto en los animales como en el hombre, se ha demostrado que tienen una potente acción vasoconstrictora<sup>(2,3)</sup>.

Aunque existen numerosos trabajos que hacen referencia a sus efectos en patología cardiovascular<sup>(4,5)</sup>, en otros numerosos órganos también parecen ejercer su acción<sup>(6,7)</sup>. En el campo de la diabetes, es en donde más recientemente han ido apareciendo estudios.

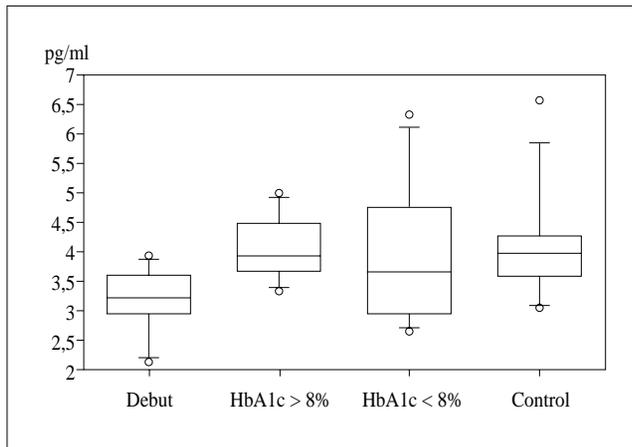
Es conocido el hecho de que en la diabetes, en función del tiempo y del grado de control metabólico, aparecen una serie de complicaciones<sup>(8)</sup>, entre las que cabe citar la proliferación endotelial. Se ha visto que las endotelinas, producen una potente vasoconstricción de las arterias ciliares y en menor intensidad de las oftálmicas, lo que sugiere un papel importante en la regulación de la circulación oftálmica<sup>(9)</sup>.

El hecho de que los resultados sobre las concentraciones plasmáticas de endotelinas en los niños diabéticos, sean muy escasos, nos ha movido a realizar el presente estudio, para valorar la posible influencia del grado de control metabólico.

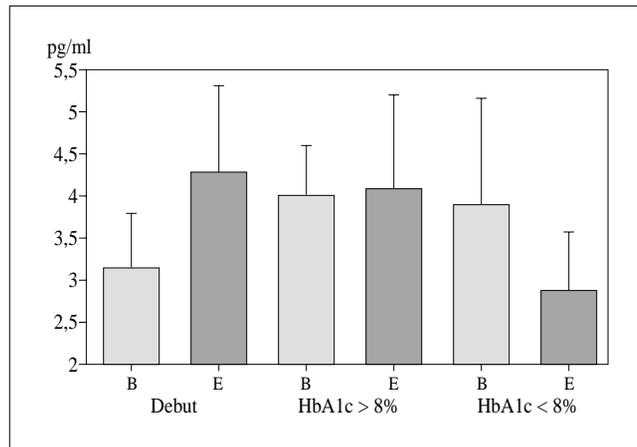
## Pacientes y metodología

El estudio se ha llevado a cabo en una serie de 26 pacientes diagnosticados y tratados por su diabetes mellitus tipo I. Sus edades oscilaban entre los 9 y los 15 años, siendo el tiempo de evolución de  $7 \pm 2,3$  años. En 7 casos el estudio se realizó en el momento del diagnóstico de la enfermedad.

Todos los niños estaban en tratamiento con una asociación de insulina ordinaria y retardada, inyectada por vía subcutánea.



**Figura 1.** Valores de endotelina en los pacientes diabéticos y grupo control.



**Figura 2.** Efecto del ejercicio (E) sobre la concentración plasmática basal (B) de endotelina.

nea, antes del desayuno y de la cena y se ponían un suplemento de insulina ordinaria antes de la comida de mediodía, si la glucemia capilar era igual o superior a 200 mg/dl. De forma asociada, estaban instruidos en el seguimiento de una dieta adecuada a su edad, en la proporción adecuada de principios inmediatos.

En ayunas y antes de ponerse la dosis correspondiente de insulina, se procedió a la extracción de sangre, de la vena antecubital, para la determinación de la hemoglobina glicosilada (HbA1c), por medio de una columna de Biorad y de la endotelina. Esta última se ha medido por radioinmunoensayo (RIA) (Nichols Institute Diagnosis B.V. Wijnchen, Holanda), tras extracción de la endotelina con columna Sep-Pak C-18 (Waters Associates. Midford. M.A.). Las muestras de plasma (3 ml) fueron acidificadas con ácido acético al 4% (4,5 ml) y aplicadas a columnas preactivadas con metanol (5 ml al 100%), agua destilada (5 ml) y ácido acético al 4%. Las columnas fueron posteriormente lavadas con agua destilada y etanol al 25%. La endotelina inmunorreactiva fue diluida dos veces con 1 ml de ácido acético al 4% y en etanol al 86%. La endotelina eluida se evaporó y se reconstituyó para el RIA.

La tasa de recuperación obtenida tras la adición de endotelina sintética, fue del 95%.

El enlace máximo de las anticuerpos antiendotelina en el RIA, fue del 27%<sup>(10)</sup>. La sensibilidad del RIA utilizado, ha sido de 1 pg/ml. Los coeficientes de variación intra/interensayo fueron del 6,9% y 12,1% respectivamente. La reactividad cruzada del antisuero para la ET-1, ET-1, ET-3 y Proendotelina, es de un 100%, 52%, 96% y 7% respectivamente.

Una segunda determinación de endotelina se practicó a todos los pacientes, tras un ejercicio aeróbico de 30 minutos de duración, adecuado en intensidad a la situación madurativa de cada paciente.

Como grupo control se tomaron 8 niños, cuyas edades eran semejantes a las de los pacientes, que consultaron por un retraso de crecimiento de tipo constitucional y en los que no existían antecedentes familiares de endocrinopatías.

Las muestras de plasma, se centrifugaron y se congelaron a  $-30^{\circ}\text{C}$ ., hasta su posterior procesamiento en una misma serie.

El estudio estadístico de los resultados, se realizó por medio de las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney y de Wilcoxon, así como el coeficiente de correlación de Spearman.

En los pacientes diabéticos, se ha considerado que el grado de compensación metabólica era aceptable, cuando la HbA1c era inferior al 8% e insuficiente cuando superaba este valor.

## Resultados

Los pacientes diabéticos en el debut de su enfermedad y en condiciones basales, tenían unas concentraciones plasmáticas de endotelina de  $3,15 \pm 0,62$  pg/ml ( $M \pm DE$ ). Cuando la diabetes estaba bien compensada ( $HbA1c < 8\%$ ), los valores obtenidos eran de  $3,91 \pm 1,25$  pg/ml y de  $4,0 \pm 0,60$  pg/ml cuando el grado de control metabólico era insuficiente ( $HbA1c > 8\%$ ).

Estos valores no eran deferentes entre sí, ni con los encontrados en el grupo control ( $4,0 \pm 1,1$  pg/ml) (Fig. 1).

No hemos encontrado correlación alguna entre las cifras de endotelina y las de HbA1c.

Por lo que respecta al estímulo del ejercicio físico, en ninguno de los grupos considerados, las concentraciones plasmáticas de endotelina, han sido estadísticamente diferentes a los obtenidos en condiciones basales y ello independientemente del grado de control metabólico (Fig. 2).

Tampoco en este caso, existía correlación entre la endotelina plasmática postestímulo y la hemoglobina glicosilada A1c.

## Discusión

Los estudios que se han realizado hasta ahora, al menos a nuestro conocimiento, referentes a las endotelinas, han sido hechos en población adulta y nuestro trabajo es el primero realizado en una muestra de edad pediátrica.

La determinación de la excreción urinaria de endotelinas en pacientes diabéticos, han puesto de manifiesto que en esta enfer-

medad, los valores son más elevados<sup>(11)</sup>. Sin embargo, las opiniones son más variables por lo que respecta a las endotelinas plasmáticas. Mientras que para algunos, estarían elevadas<sup>(12,13)</sup>, para otros, los valores de los pacientes diabéticos no serían diferentes a los de un grupo control sano<sup>(14)</sup>, en ausencia de complicaciones<sup>(15)</sup>.

En nuestros resultados, los niños diabéticos, considerados globalmente, no tienen unas concentraciones plasmáticas diferentes a las del grupo control.

El grado de compensación metabólica de la diabetes, considerando que el límite entre el buen y el mal control está en el 8% no nos ha permitido encontrar diferencias en cuanto a las cifras de endotelinas plasmáticas.

Este hecho parece estar corroborado por los estudios experimentales.

Así, se ha descrito que la hiperglucemia anula la respuesta de los pericitos a la endotelina 1<sup>(16)</sup> en la vaca. En las ratas, se ha visto que hay un descenso de respuesta de la aorta al estímulo de la endotelina, como resultado de los niveles elevados de glucosa<sup>(17)</sup> y que en la diabetes había una defectuosa respuesta vascular generalizada al estímulo de la endotelina<sup>(18)</sup>.

Hechos similares han sido recientemente descritos con las células endoteliales de la vena del cordón umbilical humano<sup>(19)</sup>.

No obstante, para otros, la hiperglucemia sería un estimulador de la secreción de endotelinas<sup>(20)</sup>. Nuestros resultados no parecen ir de ese sentido.

Conviene también tener en cuenta que todos los estudios realizados, hacen referencia a períodos cortos de hiperglucemia y desde un punto de vista clínico, es conocido el hecho de que los pacientes diabéticos tienen unas glucemias que fluctúan a lo largo del tiempo.

En nuestro caso, considerando unos períodos de evolución por debajo o por encima de los cinco años, tampoco nos ha permitido encontrar diferencias variables.

No hemos constatado en nuestros casos, que el esfuerzo físico, tal como se ha realizado, sea un estímulo para la secreción de endotelina.

Parece pues, que el estudio de las endotelinas en la diabetes mellitus es un tema controvertido en estos momentos y seguramente trabajos a más largo plazo podrán clarificar la situación.

## Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración del Dr. Wladimiro Jiménez en la revisión crítica del manuscrito.

## Bibliografía

- 1 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;**332**:411-415.
- 2 Kennedy RL, Haynes WG, Webb DJ. Endothelins as regulators of growth and function in endocrine tissues. *Clin Endocrinol* 1993;**39**:259-265.
- 3 Masaki T. Endothelins: homeostatic and compensatory actions in the circulatory and endocrine systems. *Endocr Rev* 1993;**14**:256-268.

- 4 Adatia I, Haworth SG. Circulating endothelin in children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1993;**69**:233-236.
- 5 Kinoshita O, Yoshimi H, Nagata S, Ishikura F, Kimura K, Yamabe T, Tagake K, Miyate K, Omae T. Rapid increase in plasma endothelin concentrations during precutaneous balloon dilatation of the mitral valve in patients with mitral stenosis. *Br Heart J* 1993;**69**:322-326.
- 6 Miyauchi T, Sugishita Y, Yamaguchi I, Ajisaka R, Tomizawa T, Onizuka M, Matsuda M, Kohno I, Yanagisawa M, Goto K, Suzuki N, Matsumoto H, Masaki T. Plasma concentrations of endothelin 1 and endothelin 3 are altered differently in various pathophysiological conditions in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;**17**:S394-S397.
- 7 Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995;**333**:356-363.
- 8 Arsalanian S, Becker D, Drash A. Diabetes mellitus in the child and adolescent. En Kappy. MS, Blizzard RM y Migeon CJ. eds. The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence. Charles C. Thomas. Springfield 1994;961-1026.
- 9 Haefliger IO, Flammer J, Luscher TF, Heterogeneity of endothelium-dependent regulation in ophthalmic and ciliary arteries. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;**34**:1722-1730.
- 10 Asbert M, Ginés A, Jiménez W, Claria J, Salo J, Arroyo V, Rivera F, Rodes J. Circulating levels of endothelin in cirrhosis. *Gastroenterology* 1993;**104**:1485-1491.
- 11 Totsune K, Sone M, Takahashi K, Ohneda M, Itoi K, Murakami O, Saito T, Mouri T, Yoshinaga K. Immunoreactive endothelin in urine of patients with and without diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;**17**:S423-S424.
- 12 Collier A, Leach JP, McLellan A, Jardine A, Morton JJ, Small M. Plasma endothelin immunoreactivity levels in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 1992;**15**:1038-1040.
- 13 Haak T, Jungmann E, Felber A, Hillman U, Usadel KH. Increased plasma levels of endothelins in diabetic patients with hypertension *Am J Hypertens* 1992;**5**:161-166.
- 14 Kanno K, Hirata Y, Schichiri M, Marumo F. Plasma endothelin 1 levels in patients with diabetes mellitus with or without vascular complications. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;**17**:S475-S476.
- 15 Patiño R, Ibara J, Molino A, Fernández Durango R, Moya J, Fernández Cruz, A. Increased plasma endothelin in diabetes: an atherosclerosis marker. *Diabetología* 1994;**37**:333-334.
- 16 De la Rubia G, Oliver FJ, Inoguchi T, King GL. Induction of resistance to endothelin 1's biochemical actions by elevated glucose levels in retinal pericytes. *Diabetes* 1992;**41**:1533-1539.
- 17 Hodgson WC, King RC. Effects of glucose insulin or aldose reductase inhibition on responses to endothelin 1 of aortic rings from streptozocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* 1992;**106**:644-649.
- 18 Bloch-Daum B, Vierhapper H, Eichler HG, Waldhausl W. Endothelin-induced venoconstriction in unaffected by type 2 diabetes: in vivo effect of histamine on the endothelin action on veins. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1992;**316**:90-96.
- 19 Baumgartner-Parzer S, Wagner O, Nowotny P, Vierhapper H, Waldhausl W. Stimulation of endothelin-1 production by thrombin, but lack of interference by high ambient glucose in vitro. *Eur J Endocrinol* 1994;**130**:271-275.
- 20 Yamauchi T, Ohnaka K, Takayanagi R, Umeda F, Nawata H. Enhanced secretion of endothelin-1 by elevated glucose levels from cultured bovine aortic endothelial cells. *Febs* 1990;**267**:16-18.