

# Niveles de moléculas de adhesión solubles en pacientes diabéticos tipo 2 normotensos e hipertensos

Alberto Francisco Rubio-Guerra,<sup>a\*</sup> Hilda Vargas-Robles,<sup>b</sup> Roberto Medina-Santillán<sup>c</sup>  
y Bruno Alfonso Escalante-Acosta<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Clínica de Hipertensión Arterial, Hospital General de Ticomán, Secretaría de Salud

<sup>b</sup>Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados y <sup>c</sup>Escuela Superior de Medicina, IPN, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 31 de octubre de 2007

Aceptado: 9 de noviembre de 2007

## RESUMEN

**Antecedentes:** La diabetes mellitus tipo 2 y la hipertensión arterial cursan con disfunción endotelial, lo que condiciona inflamación vascular, expresión de moléculas de adhesión que favorecen la migración celular subendotelial y el desarrollo de aterosclerosis. El objetivo de este estudio fue valorar los niveles circulantes de moléculas de adhesión solubles en pacientes diabéticos tipo 2 normotensos e hipertensos.

**Material y métodos:** Las concentraciones en suero de VCAM1, ICAM1 y E-selectina fueron determinados por ELISA (RyDSYSTEMS Minneapolis), en 80 pacientes diabéticos tipo 2, (40 normotensos y 40 hipertensos), así como en 40 sujetos normotensos no diabéticos; el método estadístico empleado fue ANOVA.

**Resultados:** Los pacientes diabéticos presentaron niveles significativamente mayores de moléculas de adhesión celular que los no diabéticos ( $p < 0.001$  para las tres moléculas). A su vez, entre los pacientes diabéticos, los sujetos hipertensos mostraron niveles significativamente mayores de ICAM que los normotensos ( $316 \pm 17$  versus  $295 \pm 16$  ng/ml  $p < 0.01$ ), mientras que en VCAM y E-selectina no hubo diferencia significativa.

**Conclusiones:** Los pacientes diabéticos muestran niveles significativamente mayores de moléculas de adhesión solubles que los no diabéticos. La coexistencia de hipertensión aumenta significativamente los valores de ICAM, esto podría explicar la mayor frecuencia de complicaciones en los pacientes que cursan con las dos patologías.

### Palabras clave:

Diabetes mellitus tipo 2, moléculas de adhesión, hipertensión arterial, disfunción endotelial

## SUMMARY

**Background:** Hypertension and type-2 diabetes affect endothelial function, which in turn increases the expression of soluble adhesion molecules and lead to the development of vascular damage. The aim of this study was to assess soluble adhesion molecule levels among normotensive and hypertensive diabetic patients.

**Material and methods:** Serum levels of soluble VCAM1, ICAM1 and e-selectin were measured in 80 type-2 diabetic patients, (40 normotensive and 40 hypertensive), and in 40 normotensive non-diabetic subjects by ELISA (RyDSYSTEMS Minneapolis). Statistical analysis was performed with ANOVA.

**Results:** Among diabetic patients, levels of all three soluble adhesion molecules were significantly increased when compared with non-diabetic patients ( $p < 0.001$  for all three molecules). In diabetic hypertensive patients, higher levels of ICAM1 were detected in comparison to normotensive diabetic patients ( $316$  vs.  $295$  ng/ml  $p < 0.01$ ), VCAM1 and e-selectin levels were not different between diabetic patients with and without hypertension.

**Conclusions:** Diabetes is associated with increased levels of soluble adhesion molecules, suggesting a role of these molecules may play in endothelial damage. ICAM1 is further increased when hypertension and diabetes are present. The latter may explain why diabetic-hypertensive patients displayed more complications than normotensive patients.

### Key words:

Type-2 diabetes, adhesion molecules, hypertension, endothelial dysfunction

## Introducción

Tanto la diabetes mellitus tipo 2 como la hipertensión arterial cursan con disfunción endotelial, lo que favorece el desarrollo de daño vascular.<sup>1</sup>

La disfunción endotelial incrementa la producción de radicales libres de oxígeno (estrés oxidativo) en la célula endotelial, ello facilita la presencia de inflamación vascular y aterosclerosis, además de establecer un círculo vicioso al condicionar más disfunción endotelial.<sup>2</sup>

El aumento del estrés oxidativo, con la consecuente reducción de la biodisponibilidad endotelial de óxido nítrico, tiene varias repercusiones, entre ellas, la expresión de varios mediadores de inflamación, así como la presencia de moléculas de adhesión en el endotelio arterial, particularmente la molécula de adhesión vascular celular-1 (VCAM1), la molécula de adhesión intercelular (ICAM) y E-selectina.<sup>3,4</sup>

Las moléculas de adhesión comentadas en el párrafo previo, están presentes normalmente a nivel venular, y el resultado de ello es una respuesta inflamatoria que elimina

\*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Alberto Francisco Rubio-Guerra. Plan de San Luis s/n, esquina Bandera, Col. Ticomán, 07330 México D.F., México. Tel. y fax: (52 555) 754 3939. Correo electrónico: clinhta@hotmail.com.

al patógeno,<sup>5</sup> sin embargo, cuando este proceso ocurre a nivel arterial, median la unión de leucocitos al endotelio y su paso al espacio subendotelial a ese nivel, un paso crucial en las primeras fases de la aterosclerosis<sup>6,7</sup> pues una vez en el espacio subendotelial arterial, los leucocitos fagocitan LDL oxidadas (los macrófagos), transformándose en células espumosas, lo que inicia el desarrollo de la placa de aterosclerosis,<sup>1,8</sup> o bien, pueden liberar sus enzimas lisosomales al medio, induciendo por esa vía daño tisular y orgánico.<sup>9</sup>

La molécula de adhesión intercelular-1 es una molécula constitutiva, y en condiciones normales está presente en concentraciones muy bajas, mientras que VCAM1 y E-selectina son inducibles, sin embargo, en presencia de disfunción endotelial, la expresión de dichas moléculas se incrementa en forma importante en la superficie luminal de la membrana de las células endoteliales. Las formas circulantes (denominadas solubles) se deben a un proceso proteolítico que las libera del endotelio activado a la circulación, por ello, los niveles circulantes de estas moléculas reflejan el grado de activación e inflamación endotelial, así como su expresión en la superficie endotelial.<sup>10</sup>

El propósito de este trabajo es estudiar los niveles circulantes de las moléculas de adhesión solubles en pacientes diabéticos tipo 2 normotensos e hipertensos.

## Material y métodos

En este estudio clínico transversal se incluyeron 40 pacientes diabéticos normotensos en quienes previo consentimiento informado por escrito, se determinaron los niveles séricos de VCAM1, ICAM1, E-selectina (ELISA, RyDSystems Minneapolis), y se compararon con los obtenidos en 40 sujetos diabéticos hipertensos sin tratamiento antihipertensivo previo y 40 sujetos no diabéticos normotensos, en quienes se realizaron las mismas determinaciones.

Se excluyeron pacientes con alguno de los siguientes diagnósticos: insuficiencia cardíaca, hepática (aminotransferasas séricas aumentadas a más del doble de su límite superior normal), renal (creatinina >2.5 mg/dL) o diabetes mellitus tipo 1. Historia de abuso de alcohol o drogas psicótropas, antecedente de ingesta de antihipertensivos, estatinas, glitazonas y ácido acetilsalicílico a dosis mayores de 350 mg cada 24 horas.

Todas las muestras se tomaron por punción venosa (aproximadamente 15 ml), después de un ayuno de ocho horas, en tubos sin anticoagulante, las muestras fueron centrifugadas a 800 rpm durante 15 minutos, posteriormente se separó el suero para ser procesado.

Se hicieron en forma inmediata las determinaciones de glucosa sérica (glucosa oxidasa), creatinina sérica (JAFPE), perfil de lípidos con colesterol (CHODPAP) y triglicéridos (triglicérido-PAP) —la cuantificación de LDL se realizó mediante el método de Friedewald en quienes presentaron valores de triglicéridos < 400 mg/dl, y en quienes presentaron valores superiores a esos, se determinaron directamente—; las muestras para cuantificación de moléculas de adhesión se congelaron a -30° C hasta el momento de su determinación,

la cual se realizó con reactivos disponibles en forma comercial, por personal que desconocía el grupo al que pertenecían los pacientes.

Las variaciones intraensayo fueron 3.1 para VCAM1, 4.1 para ICAM1, 3.8 para E-selectina; mientras que las variaciones interensayo fueron 7 para VCAM1, 7.3 para E-selectina, 7.4 para ICAM1.

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética e Investigación del Hospital General de Ticomán, Secretaría de Salud, México D.F., México, y se realizó de acuerdo a la Declaración de Helsinki. Los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos.

## Análisis estadístico

El método estadístico empleado fue análisis de varianza (ANOVA), los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar; se consideró significativa una  $p < 0.05$ .

## Resultados

Las características basales de los pacientes y controles se muestran en el cuadro I; como puede observarse, la edad, la distribución sexual, los niveles de lípidos, el perímetro abdominal y el índice de masa corporal fueron similares, aunque encontramos diferencias significativas en los valores de glucemia del grupo control y las cifras de presión arterial de los sujetos hipertensos.

La evaluación de la expresión de moléculas de adhesión en pacientes diabéticos muestra un aumento significativo ( $p < 0.001$ ) en las concentraciones de las tres moléculas estudiadas (Cuadro II). La subdivisión de los pacientes diabéticos en hipertensos y normotensos mostró que los valores de ICAM1 fueron mayores ( $p < 0.01$ ) en los hipertensos, mientras que los valores de VCAM1 y E-selectina fueron muy similares en ambos grupos de diabéticos.

## Discusión

En este trabajo encontramos que los pacientes diabéticos exhiben niveles significativamente mayores de las moléculas de adhesión ICAM1, VCAM1 y E-selectina, que los sujetos no diabéticos, también encontramos que la coexistencia de hipertensión en el grupo de pacientes diabéticos eleva significativamente los valores de ICAM1.

El diseño del estudio con la determinación de los niveles de moléculas por duplicado, permitió tomar en cuenta la variación interpersonal al realizar el análisis estadístico, además, la inclusión tanto de un grupo control como de pacientes diabéticos hipertensos sin tratamiento antihipertensivo, y sin ingesta previa de estatinas ni glitazonas —fármacos que reducen los niveles de dichas moléculas—,<sup>11</sup> pero similar en edad, índice de masa corporal, perímetro abdominal, valores séricos de lipoproteínas de baja densidad, y en los pacientes diabéticos con un tiempo de evolución similar de la diabetes mellitus, permitió tener resultados confiables y sin efectos de

**Cuadro I. Características basales de los pacientes**

	Control	Diabéticos		p
		Normotensos	Hipertensos	
Edad	58 ± 11	58 ± 10	60 ± 9	ns
Sexo (M/F)	19/21	18/22	16/24	ns
Glucemia (mg/dl)	100 ± 11*	135 ± 25	133 ± 29	<0.001*
Hemoglobina glucosilada (%)	5 <sup>+</sup>	6	6	<0.001 <sup>+</sup>
LDL (mg/dl)	127.8 ± 24	127.5 ± 26	125 ± 29	ns
T/A (mm Hg)	122/76	124/74	175/93 <sup>o</sup>	<0.001 <sup>o</sup>
Índice de masa corporal	29.8 ± 6	30.4 ± 5	30.4 ± 5	ns
Perímetro abdominal (cm)	97.2	98.2	98.4	ns
Historia de diabetes mellitus 2		8.48 años	8.36 años	ns

estas variables sobre los resultados, para hacer un análisis sin sesgos y llegar a conclusiones válidas.

La presentación de niveles más elevados de moléculas de adhesión en sujetos diabéticos puede contribuir a la mayor frecuencia de complicaciones cardiovasculares en estos pacientes, pues estas moléculas participan en el proceso de crecimiento y desarrollo de la placa de aterosclerosis,<sup>12</sup> así como en la nefropatía diabética,<sup>5</sup> de hecho, se han encontrado cifras elevadas de niveles circulantes de estas moléculas en padecimientos como hipertensión y dislipidemia, reconocidos como factores de riesgo cardiovascular.<sup>10</sup>

En diabetes mellitus tipo 2 los estudios que evalúan los niveles de moléculas de adhesión han sido contradictorios. Boulbou y colaboradores,<sup>13</sup> a diferencia de nosotros, encontraron aumento sólo de E-selectina en pacientes diabéticos; la coexistencia de hipertensión en dicho reporte sólo incrementó los niveles de VCAM1. Las diferencias podrían explicarse por el hecho de que en ese estudio se evaluó un menor número de pacientes que en el presente, el grupo de diabéticos normotensos tenía casi el doble de sujetos que los demás grupos, lo que puede influir en el análisis de los resultados, y a diferencia de nuestro estudio los pacientes de ese trabajo que cursaban con hipertensión recibían tratamiento antihipertensivo, lo cual modifica los niveles circulantes de las moléculas de adhesión.<sup>14</sup>

Por otro lado, se ha informado incremento de los niveles de moléculas de adhesión sólo en diabéticos descompensados,<sup>15</sup> lo que contrasta con nuestro estudio, donde los pacientes presentaban un aceptable control metabólico con cifras de hemoglobina glucosilada por debajo de 7%, como lo marcan las guías internacionales,<sup>16</sup> a pesar de lo cual se pudo observar aumento de las tres moléculas estudiadas.

La mayor concentración de ICAM1 en los sujetos de nuestro estudio que cursaban con las dos patologías es una razón más para explicar la mayor frecuencia de complicaciones en ellos. El estudio Edimburgo<sup>17</sup> mostró que los niveles de ICAM1 son marcadores inflamatorios que se asocian significativamente con aterosclerosis y enfermedad arterial periférica, aunque tal investigación se realizó en población general, y sólo 6% de los sujetos estudiados eran diabéticos.

Es importante señalar que en sitios de turbulencia de flujo sanguíneo es precisamente donde se desarrollan las placas de aterosclerosis, y en los sitios de flujo turbulento hay aumento de producción de ICAM1, por esta razón hay más presencia y actividad de ICAM1 en sitios donde se forman las lesiones vasculares,<sup>12</sup> además, la acción de ICAM1 es retener a los leucocitos en el sitio de inflamación,<sup>7</sup> lo que favorece la permanencia de los mismos en el sitio de la lesión, prolongando el proceso inflamatorio y favoreciendo el desarrollo de lesiones crónicas, como las placas de aterosclerosis.

**Cuadro II. Niveles de moléculas de adhesión en todos los sujetos**

	Control	Diabéticos		p
		Normotensos	Hipertensos	
VCAM1	501 ± 27 ng/ml <sup>o</sup>	824 ± 42 ng/ml	86 ± 45 ng/ml	p<0.001 <sup>o</sup>
E-selectina	59 ± 3 ng/ml*	68 ± 4 ng/ml	71 ± 4 ng/ml	p<0.01*
ICAM1	260 ± 13 ng/ml <sup>+</sup>	295 ± 16 ng/ml <sup>+</sup>	316 ± 17 ng/ml <sup>-</sup>	p<0.001 <sup>+</sup> p < 0.01 <sup>-</sup>

Nuestros resultados también pueden tener implicaciones terapéuticas, pues se ha descrito que en diabetes mellitus tipo 2 tanto los inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (ECA) como los antagonistas del calcio, reducen los niveles de moléculas de adhesión,<sup>14,18</sup> lo cual explica, al menos en parte, por qué el manejo antihipertensivo de los pacientes diabéticos con estos fármacos (o sus combinaciones) ofrece ventajas adicionales en pacientes diabéticos, tanto hipertensos como normotensos.<sup>19,20</sup>

En este trabajo encontramos que el paciente con diabetes mellitus presenta niveles aumentados de moléculas de adhesión en comparación con los sujetos no diabéticos, y que la coexistencia de hipertensión incrementa significativamente los niveles de ICAM1, esto confirma la mayor activación endotelial de estos pacientes, y es una razón más para explicar el mayor daño vascular que presentan quienes padecen diabetes mellitus, sean o no hipertensos.

## Referencias

1. **Todd R, Lee RW.** Increased incidence of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus: Mechanisms and Management. *Ann Intern Med* 2003;139:824-834.
2. **Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS.** Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:29-38.
3. **Valen G, Yan Z, Hanson GK.** Nuclear factor kappa-B and the heart. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:307-314.
4. **De Winter MPJ, Kanters E, Kraal G, Hofker MH.** Nuclear factor kB signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:904-914.
5. **Rubio AF, Robles H, Vargas G, Escalante BA.** Correlation between circulating adhesion molecules levels and albuminuria in type-2 diabetic normotensive patients. *Med Sci Monit* 2007;13:349-352.
6. **Shoelson S, Lee J, Goldfine A.** Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006;116:1793-1801.
7. **Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-part I.N *Engl J Med* 1996;334:1526-1529.
8. **Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-part II. *Blood Vessels and blood cells.* *N Engl J Med* 1996;335:43-45.
9. **Hansson GK.** Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685-1695.
10. **Galen FX.** Cell adhesion molecules in hypertension: endothelial markers of vascular injury and predictors of target organ damage? *J hypertens* 2002;20:813-816.
11. **Berg AH, Scherer PE.** Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005;96:939-949.
12. **Lobby P, Ridker PM, Maseri A.** Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-1143.
13. **Boulbou MS, Koukoulis GN, Makri ED, Petinaki EA, Gourgoulialis KI, Germentis AE.** Circulating adhesion molecules in type 2 diabetes mellitus and hypertension. *Int J Cardiol* 2005;98:39-44.
14. **Gasic S, Wagner O, Fasching P, Ludwig C, Veitl M, Kapiotis S, et al.** Fosinopril decreases levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 in borderline hypertensive type 2 diabetic patients with microalbuminuria. *Am J hypertens* 1999;12:217-222.
15. **Matsumoto K, Sera Y, Nakamura H, Ueki Y, Miyake S.** Serum concentrations of soluble adhesion molecules are related to degree of hyperglucemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2002;55:131-138.
16. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2007. *Diabetes care* 2007;30:S4-S41.
17. **Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes GR.** C-reactive protein, interleukin-6 and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in the general population. *Circulation* 2005;112:976-983.
18. **Yamagushi M, Suwa H, Miyasaka M, Kumada K.** Selective inhibition of vascular cell adhesion molecule-1 expression by verapamil in human vascular endothelial cells. *Transplantation* 1997;63:759-764.
19. **Eurico DT, Majumdar SR, Tsuyuki RT, Johnson JA.** Reduced mortality associated with the use of ACE inhibitors in patients with type-2 diabetes. *Diabetes care* 2004;27:1330-1334.
20. **Rubio AF, Arceo A, Vargas G, Rodríguez L, Lozano JJ, Treviño C.** The effect of trandolapril and its fixed-dose combination with verapamil on proteinuria in normotensive adults with type 2 diabetes. *Diabetes care* 2004;27:1688-1691.