

ORIGINALES

Implicación endotelial en la disfunción vascular en la diabetes experimental. Papel del captopril

A. Benito*, E. Saiz*, M. Rodríguez-Puyol*** y D. Rodríguez-Puyol**

* Servicio de Medicina Interna y ** Sección de Nefrología. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. *** Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Alcalá de Henares. Alcalá de Henares. Madrid.

RESUMEN

La diabetes mellitus, en sus fases iniciales, se caracteriza por un incremento del flujo sanguíneo en determinados territorios de la economía, mientras que en sus fases avanzadas se puede asociar a hipertensión. Tanto en uno como en otro estado, se pueden utilizar fármacos hipotensores, en particular inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA). En el presente trabajo se analizó la capacidad de contracción intrínseca de segmentos vasculares de rata diabética, con el fin de profundizar en la comprensión de la disfunción vascular asociada a la diabetes. Para ello se estudió la respuesta contráctil a la norepinefrina (10 nM) de segmentos anulares de la aorta torácica, procedentes de ratas controles y diabéticas (estreptozotocina, 65 mg/kg, i.p.), con y sin endotelio, en presencia o no de captopril (100 µM), lisinopril (20 µM) o L-NAME (80 µM). En todos los casos se observó una respuesta contráctil disminuida de los segmentos de aorta de rata diabética con respecto a los controles, únicamente en presencia de endotelio intacto, ya que este efecto desaparecía tras eliminarlo. La presencia de captopril, pero no de lisinopril, en el baño de órganos revirtió radicalmente esta hipocontractilidad. Igualmente, la incubación de los anillos aórticos de rata diabética con un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico (L-NAME) previno totalmente la hipocontractilidad asociada a la diabetes. En resumen, el análisis de los resultados indica que existe una respuesta contráctil defectuosa de las aortas de rata diabética, que parece depender de factores humorales endoteliales, entre los que podría estar el óxido nítrico, y que revierte totalmente en presencia de captopril, pero no de lisinopril. Este efecto del captopril podría radicar en su capacidad antioxidante, por poseer un grupo -SH₂, pero son necesarios más estudios para confirmar esta hipótesis.

Palabras clave: **Diabetes. Hipertensión. Vasodilatación. Captopril. Oxido nítrico.**

ENDOTHELIUM AND VASCULAR DYSFUNCTION EXPERIMENTAL DIABETES: ROL OF CAPTOPRIL

SUMMARY

The early stages of diabetes mellitus are characterized by an increased blood flow in some vascular beds, whereas hypertension may appears in the late stages.

Recibido: 30-VI-95.
En versión definitiva: 16-1-96.
Aceptado: 18-1-96.

Correspondencia: Dr. Diego Rodríguez-Puyol.
Sección de Nefrología.
Hospital Universitario Príncipe de Asturias.
Carretera Alcalá-Meco, s/n.
Alcalá de Henares. 28806 Madrid.

Converting-enzyme inhibitors (CEI) have been used in both situations. In this study the intrinsic contractile ability of isolated aortic rings of diabetic rats was analyzed, in order to understand the underlying mechanisms of diabetes-related vascular dysfunction. The norepinephrine (10 nM) dependent contraction of thoracic aorta isolated rings was evaluated in control and diabetic (streptozotocin 65 mg/kg, i.p.) rats, with or without endothelium, in the presence or absence of captopril (100 µM), lisinopril (20 µM) or L-NAME (80 µM). Aortic rings from diabetic rats showed a marked hypocontractility with respect to control animals, but these differences were only detected in the rings with an intact endothelium. Captopril completely prevented the hypocontractility of diabetic rat aortic rings, whereas lisinopril only partially reversed this defect. Moreover, preincubation of the aortic rings from diabetic rats with a nitric oxide synthesis inhibitor, abolished the diabetes-related hypocontractility. In summary, these results support a decreased contractility of aortas from diabetic rats by a mechanism dependent on humoral endothelial factors, probably including nitric oxide. Captopril but not lisinopril completely prevented this defect, and this difference could be due to the antioxidant properties of captopril. Additional experiments are needed to confirm this hypothesis.

Key words: **Diabetes. Hypertension. Vasodilatation. Captopril. Nitric Oxide.**

Introducción

En pacientes con diabetes mellitus de larga evolución es muy frecuente la aparición de hipertensión arterial (HTA) ^{1,2}. Esta HTA parece depender de tres factores fundamentales. Por una parte, de las alteraciones estructurales progresivas de la pared arterial, con la subsiguiente enfermedad ateroembólica de la macro y microcirculación ^{3,4}. Por otra, de los cambios funcionales que, como consecuencia de la hiperglucemia mantenida, pueden tener lugar en los mecanismos homeostáticos responsables del mantenimiento del tono vascular ^{5,6}, de forma que tiene lugar una hipercontractilidad ⁷⁻⁹ o bien una respuesta disminuida del vaso ante los relajantes habituales ^{11,12}. Finalmente, y en estadios avanzados de la enfermedad, de la presencia de una insuficiencia renal establecida.

Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en las fases finales de la diabetes, en los estadios iniciales de la enfermedad no complicada se ha descrito un incremento del flujo sanguíneo por diversos órganos, incluido el riñón ¹³⁻¹⁵, y una reducción de las resistencias vasculares periféricas ^{16,17}. El mecanismo exacto de esta reducción aparentemente general del tono vascular es todavía oscuro, pero parece ser la consecuencia de unos elevados niveles de glucosa, siendo, por tanto, reversible tras la mejoría en el control glicémico. Existen evidencias de que en los estadios iniciales de la diabetes no complicada, la atenuación de las resistencias periféricas podría depender de una producción incrementada de óxido nítrico (NO) ^{9,18,19}, potente vasodilatador endotelio-dependiente descrito inicialmente por Furchgott y Zawadzki ²⁰. En contraste, existen estudios experi-

mentales que demuestran una menor respuesta vascular a endotelina-1 incluso en ausencia de endotelio ^{10,21,22}, lo que sugiere alteraciones contráctiles asociadas del músculo liso vascular.

Los inhibidores del enzima conversor de angiotensina (IECA), conocidos agentes hipotensores, ejercen su acción fundamentalmente a través de la inhibición de la formación del potente agente presor angiotensina II (AII). No obstante, su acción hipotensora puede verse complementada por su también conocida acción de inhibición de la degradación de bradiquinina ²², así como por otros efectos menos conocidos hasta el momento. En este sentido se ha señalado una posible acción antioxidante del captopril, que, a diferencia de otros IECA, presenta en su estructura molecular grupos-SH, capaces de interactuar con radicales libres de oxígeno, inactivándolos. Este aspecto estructural ha sido relacionado con una mejoría en la función cardíaca postisquémica, significativamente diferente de la inducida por otros IECA carentes de dicho grupo -SH ²³. Además, se sabe que el captopril puede resultar útil en el control de la proteinuria asociado a la nefropatía diabética ^{24,25}, y este efecto terapéutico beneficioso podría estar mediado, al menos parcialmente, por la capacidad del fármaco para reducir la hiperfiltración glomerular o, lo que es lo mismo, para mejorar la hypocontractilidad vascular a nivel renal.

El presente estudio se diseñó para valorar algunos de los aspectos mencionados. Por una parte, el papel del endotelio y/o del músculo liso en la hypocontractilidad vascular en los estadios iniciales de la diabetes, y por otra, la capacidad del captopril en la reversión de esta hypocontractilidad en comparación con un IECA sin grupo -SH, como el lisinopril.

MATERIAL Y METODOS

1. Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho de entre 200 y 300 g. de peso, estableciendo dos grupos experimentales: control (n = 36) y diabetes (n = 42). La diabetes fue inducida mediante inyección intraperitoneal de 65 mg/kg de estreptozotocina en tampón citrato (A. cítrico, 100 mM; NaCl, 145 mM; pH, 4,5). Al grupo control se le administró el mismo volumen de tampón citrato, también intraperitoneal. Los animales se mantuvieron durante 4 semanas, con acceso libre al agua y a la comida, en condiciones estándar de temperatura, luz y humedad. Para evitar la depleción de volumen secundaria a la glucosuria se suplementó a todos los animales con 2 mmol/día de NaCl. Únicamente se consideraron como diabéticos aquellos animales que, tras la inyección con estreptozotocina, alcanzaron una glucemia en el momento del sacrificio superior a 300 mg/dl. Cuarenta y ocho horas antes del sacrificio se aisló a los animales en cajas metabólicas, manteniendo acceso libre al alimento y agua, con el suplemento de CINA mencionado, procediendo a recogida de orina de las últimas 24 horas. En el momento del sacrificio se recogió la volemia total para las determinaciones analíticas.

2. Preparación de los anillos vasculares

Tras anestesiarse los animales con éter etílico se procedió a la apertura del tórax y del abdomen. Tras identificar la bifurcación aórtica se puncionó y extrajo toda la sangre, que se utilizó para las determinaciones bioquímicas básicas. La aorta descendente torácica fue cuidadosamente separada, evitando cualquier estiramiento innecesario durante el proceso de aislamiento y, una vez retirada, se depositó en tampón Krebs frío (4 ° C) (NaCl, 118 mM; KCl, 4,7 mM; CaCl₂, 2,5 mM, MgSO₄, 1,2 mM; NaHCO₃, 25 mM; pH, 7,4). A continuación se limpió la aorta de toda la grasa y tejido conectivo que la rodeaba y se cortó en segmentos de 4,7 ± 0,5 mm, estudiando los tres segmentos más proximales. En algunos casos se retiró el endotelio pasando con suavidad un cilindro de madera a través de la luz de los anillos, haciendo girar cuidadosamente los anillos alrededor del cilindro. Posteriormente se verificó la ausencia de endotelio por ausencia de relajación frente a acetilcolina (ACh, 1 µM) en los anillos precontraídos.

3. Estudios en anillos vasculares aislados

Los anillos se suspendieron entre unos ganchos paralelos, conectados por uno de sus extremos a un

transductor y sumergidos en un baño de 5 ml termorregulado a 37 °C, que contenía tampón Krebs burbujeado con carbógeno (O₂, 95%; CO₂, 5%). Se mantuvo una tensión de reposo de 1,0 g para los anillos vasculares de ambos grupos experimentales. Los cambios en la tensión isométrica fueron registrados en un polígrafo (Poly-Graph 4000, Leticia) tras 30 minutos de estabilización. Transcurrido este tiempo se añadió al baño norepinefrina (10 nM), observando una intensa contracción inicial, y pasados aproximadamente 15-25 min., una relajación espontánea hasta alcanzar la línea de base. Se analizaron diferentes parámetros de la curva obtenida: a) *Pico*, máxima contracción objetivada; b) *Tiempo pico*, tiempo empleado en alcanzar el pico máximo desde el comienzo del experimento (tiempo 0); c) *Amplitud*, tiempo total empleado en alcanzar de nuevo la línea base desde el comienzo del experimento, y d) *Pendiente*, de la curva descendente (relajación espontánea).

En un grupo de anillos diabéticos se añadió al tampón del baño captopril (CAPT, 100 µM)²⁶, lisinopril (LIS, 20 µM)²⁷ o un inhibidor de la NO-sintetasa, N^G-monometil-L-arginina (L-NAME, 80 µM)²⁸ 30 minutos antes de proceder a la adición de la norepinefrina.

4. Métodos estadísticos

Todos los resultados se expresan como media ± error estándar de la media. Cuando se compararon dos medias de dos grupos experimentales, se utilizó la t de Student para datos no pareados. Cuando se compararon varias distribuciones de valores, se utilizó un análisis de varianza de un factor por tratarse de muestras independientes y tras asegurar una distribución normal de las muestras, sin diferencias significativas entre sus varianzas, seguido de una prueba de comparación múltiple de medias. Se consideró como estadísticamente significativa una p < 0,05.

Resultados

Durante el período de estudio, el peso de los animales controles aumentó significativamente (inicial, 274 ± 47 g.; final, 441 ± 11 g.), sin observarse cambios en este parámetro en los animales diabéticos (inicial, 284 ± 42 g.; final 289 ± 8 g.). En la tabla I se muestran los principales parámetros bioquímicos en sangre y orina en los grupos de estudio. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los valores sanguíneos entre los distintos grupos experimentales, a excepción de la glucosa, que experimentó un considerable aumento en el gru-

Tabla I. Parámetros séricos y urinarios en los distintos grupos experimentales.

	C	D
Glucosa P. (mg/dl).....	189 ± 27	615 ± 52*
Sodio P. (mmol/l).....	132 ± 4	130 ± 2
Glucosa O. (mg/día).....	75 ± 14	8858±654*
Sodio O. (mmol/día).....	2,2 ± 0,4	4,6 ± 1,2
Proteínas O. (mg/día).....	2,4 ± 0,6	28,7 ± 3,3*
C _{cr} (ml/min/100 g peso).....	0,38±0,02	1,05±0,10*

Los datos que se muestran son la media ± e.e.m. C: ratas control, n = 25. D: ratas diabéticas, n = 45. P: determinaciones plasmáticas. O: determinaciones urinarias. C_{cr}: aclaramiento de creatinina. * p < 0,05 vs grupo control.

po de animales diabéticos. Con respecto a los parámetros urinarios, se observó un incremento estadísticamente significativo en la glucosuria y proteinuria, sin modificaciones en la natriuresis, de los animales diabéticos con respecto a los controles. El aclaramiento de creatinina también aumentó significativamente en las ratas con diabetes (tabla I).

Los segmentos aórticos con endotelio intacto procedentes de animales diabéticos mostraron una disminución estadísticamente significativa, con respecto a los animales controles, en la contracción máxima (pico) (tabla II, fig. 1, panel superior). No hubo diferencias ni en el tiempo invertido en alcanzar la contracción máxima ni en la amplitud de todo el proceso de contracción-relajación en los dos grupos experimentales, pero la pendiente de relajación fue significativamente menor en los anillos de rata diabética (tabla II, fig. 1, panel superior). En la figura 1, panel inferior, y en la tabla II se observa que, tras la retirada del endotelio, todos los parámetros estudiados fueron similares en ambos grupos experimentales.

Tabla II. Parámetros de contracción/relajación de segmentos aórticos de los dos grupos experimentales, con y sin endotelio, en presencia de norepinefrina.

	Con endotelio		Sin endotelio	
	Control (n = 32)	Diabetes (n = 31)	Control (n = 30)	Diabetes (n = 30)
Pico (g).....	0,29 ± 0,03	0,17 ± 0,02*	0,28 ± 0,03	0,26 ± 0,02
Tiempo pico (sg).....	95 ± 11	100 ± 10	109 ± 15	103 ± 12
Amplitud (sg).	584±25	660±57	570±22	600±30
Pendiente..... (10 ⁻³ g.sg ⁻¹)	-0,6 ± 0,08	-0,3 ± 0,03	-0,6 ± 0,07	-0,6 ± 0,03

Los datos que se muestran son la media ± e.e.m. * p < 0.05 vs control.

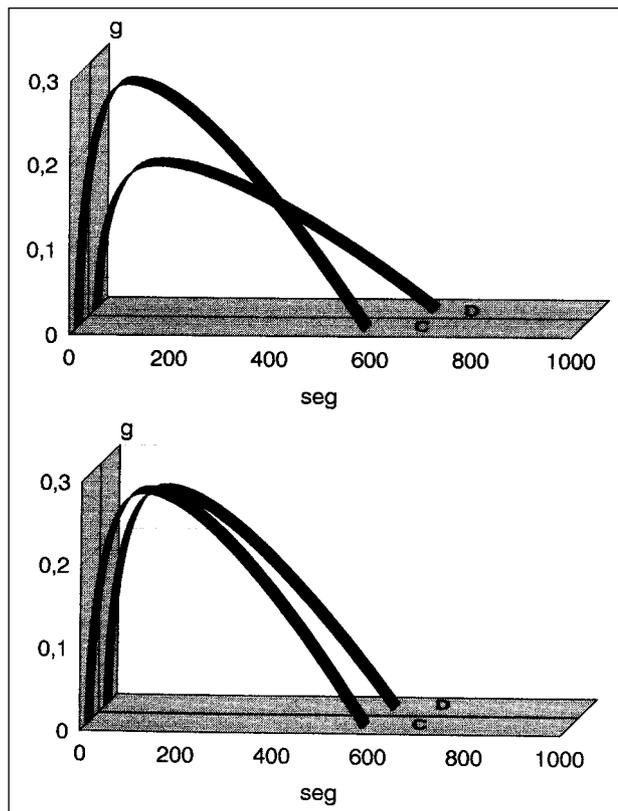


Fig. 1.—Curvas medias de contracción/relajación en presencia de norepinefrina de segmentos aórticos de ratas controles y diabéticas, con (panel superior) y sin (panel inferior) endotelio, sin adición de fármacos al baño. C: Controles. D: Diabéticos.

En los anillos diabéticos incubados con captopril se observaron las siguientes modificaciones en la respuesta contráctil (fig. 2 y tabla III): el pico máximo

Tabla III. Parámetros de contracción/relajación de segmentos aórticos con endotelio de ratas diabéticas, añadiendo captopril y lisinopril al medio de incubación, en presencia de norepinefrina.

	Control (n = 32)	Diabetes (n = 31)	Control (n = 25)	Diabetes (n = 26)
Pico (g).....	0,29 ± 0,03	0,17 ± 0,02-	0,29 ± 0,03 ^b	0,22 ± 0,02 ^{ac}
Tiempo pico (sg).....	95 ± 11	100 ± 10	121 ± 7	108 ± 6
Amplitud (sg) ...	584±25	660±57	975±169 ^a	646±41 ^c
Pendiente..... (10 ⁻³ g.sg ⁻¹)	-0,6 ± 0,08	-0,3 ± 0,03 ^a	-0,4 ± 0,05	-0,4 ± 0,05

Los datos que se muestran son la media ± e.e.m. D-Captopril: anillos de ratas diabéticas incubados 30 minutos con captopril 100µM. D-Lisinopril: anillos de ratas diabéticas incubados 30 minutos con Lisinopril 20 µM. a: p < 0.05 vs Control. b: p < 0.05 vs diabetes. c: p < 0.05 vs D-Captopril.

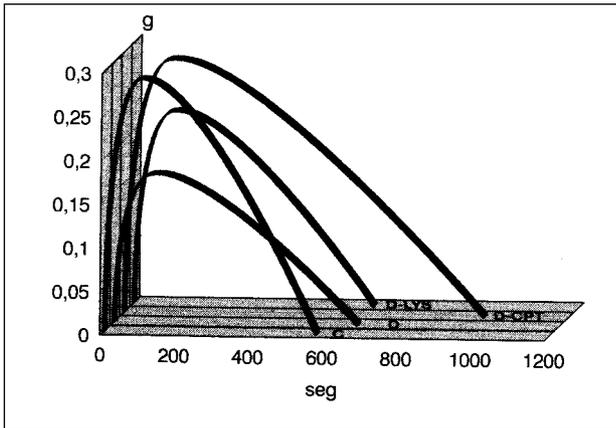


Fig. 2—Curvas medias de contracción/relajación en presencia de norepinefrina, de segmentos aórticos de ratas controles y diabéticas con endotelio, en presencia de captopril o lisinopril en el baño. C: Controles. D: Diabéticos. D-CPT: Adición de captopril (100 μ M) al baño de incubación de anillos diabéticos durante 30 minutos. D-LYS: Adición de lisinopril (20 μ M) al baño de incubación de anillos diabéticos durante 30 minutos.

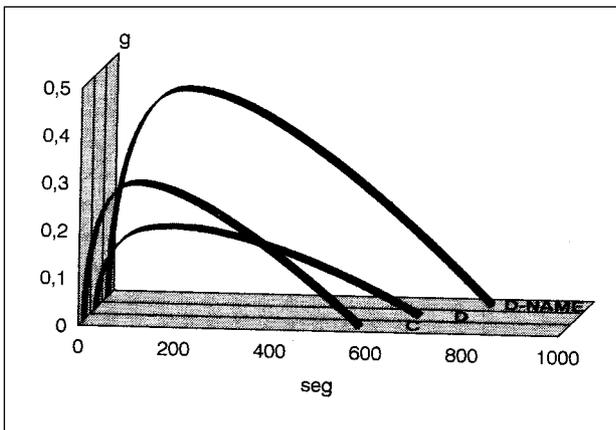


Fig. 3—Curvas medias de contracción de segmentos aórticos de ratas diabéticas, con endotelio, en presencia de N^g-monometil-L-arginina (L-NAME). C: Controles. D: Diabéticos. D-NAME: Adición de L-NAME (80 μ M) al baño de incubación de anillos diabéticos durante 30 minutos.

obtenido tras el estímulo de norepinefrina retornó a valores similares a los controles, apreciando un aumento no significativo en el *tiempo pico* y la *amplitud*, sin observar variaciones en la pendiente. Sin embargo, la adición de lisinopril no fue tan eficaz como la de captopril para revertir el defecto de contractilidad de los anillos diabéticos, si bien mejoró parcialmente la respuesta contráctil vascular ante norepinefrina; de esta forma, el *pico* máximo alcanzado se situó en un valor intermedio entre los anillos diabéticos no tratados y los controles (figura 2 y tabla III).

Tabla IV. Parámetros de contracción/relajación de segmentos aórticos con endotelio de ratas diabéticas, añadiendo L-NAME al medio de incubación, en presencia de norepinefrina,

	Control (n = 32)	Diabetes (n = 31)	Control (n = 26)
Pico (g).....	0,29 ± 0,03	0,17 ± 0,02 ^a	0,44 ± 0,05 ^{ab}
Tiempo pico (sg)	95 ± 11	100 ± 10	147 ± 13 ^{ab}
Amplitud (sg).....	584±25	660±57	791±70 ^a
Pendiente..... (10 ⁻³ g.sg ⁻¹)	-0,6 ± 0,08	-0,3 ± 0,03 ^a	-0,7 ± 0,1 ^b

Los datos que se muestran son la media ± e.e.m. D-NAME (anillos de ratas diabéticas incubados durante 30 minutos con L-NAME, 80 μ M). ^a: p < 0,05 vs Control ^b: p < 0,05 vs diabetes.

Como se puede ver en la tabla IV y figura 3, cuando se añadió L-NAME al baño de órganos, conteniendo anillos aórticos con endotelio del grupo diabetes, se observó un significativo aumento en el *pico*, *tiempo pico* y *pendiente*, sin variación en la amplitud respecto a los mismos parámetros en ausencia de fármacos.

Discusión

La fuerte asociación epidemiológica entre diabetes, hipertensión y enfermedad aterosclerótica indica que en la diabetes, y probablemente debido a la hiper glucemia, se producen determinadas alteraciones en la reactividad vascular que justifican la citada asociación, lo que ha llevado a muchos investigadores a profundizar en el estudio de esta interrelación, cuyos mecanismos distan mucho de ser conocidos en el momento actual. Una posible explicación de este fenómeno fisiopatológico podría radicar en una excesiva reactividad vascular de los enfermos diabéticos en respuesta a agonistas vasoconstrictores fisiológicos o bien a una reducida relajación vascular. Por el contrario, otros estudios proponen que en las fases iniciales de la diabetes existe una menor reactividad vascular, manifestada por un descenso de las resistencias periféricas^{16, 17}, quizá dependiente de una síntesis/acción alterada de factores endoteliales relajantes^{9, 18, 19} o una reducida respuesta vascular a metabolitos vasoconstrictores²¹. Además, un buen número de estudios experimentales y humanos consideran que la hiperfiltración, una de las fases más precoces de la nefropatía diabética, es debida, al menos parcialmente, a una cierta hiporreactividad vascular y me-

sangial frente a agonistas vasoconstrictores fisiológicos^{29, 30}.

Los experimentos expuestos anteriormente fueron diseñados para responder, entre otras preguntas, a este tipo de planteamientos conceptuales. Se realizaron en animales de experimentación con el fin de poder analizar *in vitro* la contractilidad vascular. La diabetes experimental fue inducida con estreptozotocina, que destruye las células β pancreáticas sin afectar la función renal o vascular³¹, y los estudios se realizaron en fases precoces del proceso, mucho antes de que aparezcan alteraciones estructurales^{32, 33}. Los animales diabéticos incluidos en el estudio, que no recibieron insulina en ningún momento, presentaron hiperglucemia, hiperfiltración y proteinuria, características todas ellas de las fases iniciales de la nefropatía diabética³⁴.

Tras la adición de norepinefrina a los baños conteniendo segmentos de aorta con endotelio de los dos grupos experimentales se observó que los anillos procedentes de animales diabéticos experimentaban una hipocontractilidad significativa con respecto a los controles, expresada por una menor respuesta *pico*, sin observar diferencias en la relajación espontánea, expresada por la amplitud, obteniéndose lógicamente una menor pendiente. Sorprendentemente, tras la retirada del endotelio, los valores obtenidos fueron todos similares. Estos hallazgos demuestran que, en nuestro modelo experimental, la hipocontractilidad vascular diabética depende fundamentalmente, si no exclusivamente, de la presencia de endotelio, lo que hace pensar que éste produce sustancias vasodilatadoras en exceso, si bien también podría sugerirse que el músculo liso vascular diabético podría reaccionar de manera exagerada ante una producción normal de estos metabolitos. Como explicación alternativa se podría proponer que, debido a procesos fisiopatológicos complejos, y siempre en relación con la presencia de endotelio, los anillos diabéticos estuvieran submáximamente contraídos antes de la adición de la NE, lo que no permitiría observar una contracción similar a los controles por agotamiento precoz de su capacidad contráctil. Esta segunda hipótesis debería ponerse en relación con una producción patológica de sustancias vasoconstrictoras por parte del endotelio.

En los experimentos en los que se utilizó un inhibidor de la óxido nítrico sintetasa (L-NAME), siempre en presencia de endotelio, se observó que este bloqueante farmacológico inducía la desaparición de la hipocontractilidad diabética, lo que sugiere que, de las dos hipótesis previamente expuestas, es más probable la primera, dado que si la menor respuesta observada en los diabéticos fuera una falsa hipocontractilidad debida a una submáxima contracción

previa, la presencia de L-NAME en el baño habría desequilibrado aún más la balanza en favor de la vasoconstricción basal, lo que se habría expresado como una todavía menor respuesta *pico*. En estos mismos experimentos se observa que la relajación espontánea en anillos diabéticos tratados con L-NAME (*amplitud*) es significativamente mayor que en los controles, probablemente debido a la mayor contracción alcanzada y al mayor tiempo empleado en ello (*tiempo pico*), ya que la pendiente es similar. Un segundo aspecto muy importante de los resultados obtenidos con L-NAME es la información que proporcionan con respecto a la naturaleza de los posibles mediadores relajantes endoteliales implicados en la hiporrespuesta vascular diabética. Si bien el endotelio produce diferentes mediadores vasorrelajantes, es muy probable que el implicado en las alteraciones de la contractilidad asociadas a las fases precoces de la diabetes sea el óxido nítrico.

Establecida, por tanto, la hipótesis de una reducida respuesta vascular en los anillos diabéticos dependiente de una producción anormalmente alta de NO por el endotelio, o tal vez de una mayor sensibilidad a este metabolito por parte del músculo liso, se realizaron los experimentos con captopril. Como se puede ver en los resultados, la presencia de captopril normalizó la máxima respuesta contráctil (*pico*) de los anillos diabéticos aproximándola a valores similares a los controles. A la luz de los conocimientos actuales no es posible explicar completamente estos hechos. Existen indicios experimentales de que, en determinadas situaciones, el captopril puede actuar como un agente vasoconstrictor intrínseco^{30, 35, 36}. Además, estudios previos han sugerido que los efectos beneficiosos del captopril puede tener relación, al menos parcialmente, con la presencia del radical -SH, con actividad eliminadora de radicales libres, que no se encuentra presente en otros inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina, y que puede ser determinante en la modulación de fenómenos fisiopatológicos locales implicados en la regulación del tono vascular^{23, 37}. Un aspecto muy importante de estos resultados es la diferencia existente entre los dos inhibidores del enzima de conversión utilizados: el lisinopril, aunque mejoró la contracción de los anillos de ratas diabéticas, no la normalizó completamente como el captopril. Estos resultados pueden ser atribuidos a diferencias intrínsecas entre ambos fármacos, pero también pueden ser la consecuencia de las dosis seleccionadas. Aunque la relación de concentraciones se estableció en función de las equivalencias aproximadas de ambos fármacos en tratamientos crónicos en el ser humano, no se han realizado estudios específicos para valorar la bioequivalencia de las mismas, motivo por el que hay

que ser muy cautos a la hora de interpretar los resultados hasta que se disponga de estudios farmacológicos más específicos.

En resumen, el análisis de los resultados de nuestro estudio muestra que en las fases iniciales de la diabetes experimental existe una llamativa hipocontractilidad vascular, dependiente de la presencia de endotelio, debido muy probablemente a una excesiva producción de óxido nítrico, espontánea o estimulada por otros agonistas, o bien a una hipersensibilidad del músculo liso vascular a los efectos de aquél. Esta hipocontractilidad es revertida por el captopril y no por el lisinopril, tal vez en relación con la capacidad antioxidante del primero. Quedan, no obstante, un buen número de cuestiones importantes sin resolver, que deberán ser abordadas en futuros diseños experimentales.

Agradecimientos

Estos resultados han sido realizados con ayudas del Fondo de Investigaciones Sanitarias. Queríamos agradecer a María del Carmen Fernández Iriarte su valiosa ayuda en el desarrollo de los estudios en anillos vasculares aislados.

Bibliografía

1. Blythe WB: Natural history of hypertension in renal parenchymal disease. *Am J Kidney Dis* 5:A50-6, 1985.
2. Derby L, Laffel LBM y Krolewski AS: Risk of diabetic nephropathy declines with age in type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 31:485A, 1988.
3. Palsey RB, Arredondo G, Villalobos A, Lozano O, Guevara L y Kelly S: Association of differing dietary, metabolic and clinical risk factors with macrovascular complications of diabetes: a prevalence study of 503 Mexican type II diabetic subjects. *Diabetes Care* 7:421-27, 1984.
4. Palsey RB, Arredondo G, Villalobos A, Lozano O, Guevara L y Kelly S: Association of differing dietary, metabolic and clinical risk factors with microvascular complications of diabetes: a prevalence study of 503 Mexican type II diabetic subjects. *Diabetes Care*, 7:428-33, 1984.
5. Feliciano A, Sobral do Rosario H, Goulao I, Borges MG, Silva M, Rego P, Silverio S y Pedro V: Factores endoteliais vasoativos. *Rev Port Cardiol* 12: 557-60, 1993.
6. De Tejada IS, Goldstein I, Azadzi K, Krane RJ y Cohen RA: Impaired neurogenic and endothelium-relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med* 320:1025-30, 1989.
7. Chang SK y Stevens WC: Endothelium-dependent increase in vascular sensitivity to phenylephrine in long-term streptozotocin diabetic rat aorta. *Br J Pharmacol* 107:983-90, 1992.
8. Dai F, Diederich A, Skopec J y Diederich D: Diabetes-induced endothelial dysfunction in streptozotocin-treated rats: Role of prostaglandin endoperoxides and free radicals. *J Am Soc Nephrol* 4:1327-36, 1993.
9. Corbett JA, Tilton RJ, Chang K, Hasan KS, Ido Y, Wang JL,

- Sweetland MA, Lancaster JR, Williamson JR y McDaniel ML: Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes* 41:552-6, 1992.
10. Fulton DJ, Hodgson WC, Sikorski BW y King RG: Attenuated responses to endothelin-1, KCl and CaCl₂, but not noradrenaline, of aortae from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Br J Pharmacol* 104:928-32, 1991.
 11. Abiru T, Watanabe Y, Kamata K, Miyata N y Kasuya Y: Decrease in endothelium-dependent relaxation and levels of cyclic nucleotides in aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 68: 13-25, 1990.
 12. Lash JM y Bohlen HG: Structural and functional origins of suppressed acetylcholine vasodilatation in diabetic rat intestinal arterioles. *Circ Res* 69:1259-68, 1991.
 13. Kohner EM, Hamilton AM, Saunders SJ, Sutcliffe BA y Bulpitt CJ: The retinal flow in diabetes. *Diabetologia* 11:27-33, 1975.
 14. Mogensen CE: Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term and long-term juvenile diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 28:91-100, 1971.
 15. Houben AJM, Schaper NC, Slaaf DW y Tangelder GJ: Skin blood cell flux in insulin-dependent diabetic subject in relation to retinopathy or incipient nephropathy. *Eur J Clin Invest* 22: 67-72, 1992.
 16. Mathiesen ER, Hilsted J, Feldt-Rasmussen B, Bonde-Petersen F, Christensen NJ y Parving HH: The effect of metabolic control on hemodynamics in short-term insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes* 34:1301-5, 1985.
 17. Thuesen L, Christiansen JS, Mogensen CE y Henningsen P: Cardiac hyperfunction in insulin-dependent diabetic patients developing microvascular complications. *Diabetes* 37:851-6, 1988.
 18. Smulders RA, Stehouwer CDA, Olthof CG, Van Kamp GJ y Donker AJM: Plasma endothelin levels and vascular effects of L-arginine in type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 35:A19, 1992.
 19. Elliot TG, Cockcroft JR, Groop PH, Earle K, Morocutti A, Viberti GC y Ritter JM: Vascular responses in the forearm of microalbuminuric type I diabetic patients: evidence of altered nitric oxide biosynthesis. *Diabetologia* 35:A19, 1992.
 20. Furchgott RF y Zawadzki JW: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288:373-6, 1980.
 21. Hodgson WC y King RG: Effects of glucose, insulin or aldose reductase inhibition on responses to endothelin-1 of aortic rings from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* 106:644-9, 1992.
 22. Zusman RM: Renin and non renin mediated antihypertensive actions of converting enzyme inhibitors. *Kidney Int* 25:969-983, 1984.
 23. Westlin W, Mullane K: Does captopril attenuate reperfusion-induced myocardial dysfunction by scavenging free radicals? *Circulation* 77:1130-9, 1988.
 24. Myers BD y Meyer TW: Angiotensin-converting enzyme inhibitors in the prevention of experimental diabetic glomerulopathy. *Am J Kid Dis* 13:20-4, 1989.
 25. Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG y Brenner BM: Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacologic amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-30, 1986.
 26. Larrue J, Demond-Henri Jy Daret D: Renin-Angiotensin system in cultured human arterial smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 14:S43-5, 1989.
 27. Levy BI, Benessiano J, Poitevin P y Safar ME: Endothelium-dependent mechanical properties of the carotid artery in WKY and SHR. *Circ Res* 66:321-8, 1990.

DISFUNCION VASCULAR EN DIABETES EXPERIMENTAL

28. Hirata Y, Emori T, Eguchi S, Kanno K, Imai T, Ohta K y Marumo F: Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells. *J Clin Invest* 91:1367-73, 1993.
29. Ballerman BJ, Skorecki KL y Brenner BM: Reduced glomerular angiotensin II receptor density in early untrated diabetes mellitus in the rat. *Am J Physiol* 247: F110-6, 1984.
30. Saiz E, Benito A, González Rubio M, Ruiz Torres MP, Lucio J, Martos R y Rodríguez Puyol D: Respuesta contráctil glomerular en un modelo de nefropatía diabética experimental. *Nefrologia* XIV:465-71. 1994
31. Evan AP, Mong SA, Gattone VH, Connors BA, Aronoff GR y Luft FC: The effect of streptozotocin and streptozotocin-induced diabetes on the kidney. *Renal Physiol* 7:78-89. 1984.
32. Wehner H, Nelischer G: Morphometric investigations on intrarenal vessels of streptozotocin-diabetic rats. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 419:231-235, 1991.
33. Mauer SM, Seffes MW, Azar Sy Brown DM: Effects of dietary protein content in streptozotocin-diabetic rats. *Kidney Int* 35:48-59, 1989
34. Mogensen CE, Christensen CK y Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease: with emphasis on the stage of incipient nephropathy. *Diabetes* 32:64-78, 1983.
35. Momose N, Fukuo K, Morimoto Sy Ogihara T: Captopril inhibits endothelin-I secretion from endothelial cells through bradykinin. *Hypertension* 21:9214-1993.
36. Gardiner SM y Bennen T: Involvement of nitric oxide in the regional haemodynamic effects of perindoprilat and captopril in hypovolaemic Brattleboro rats. *Br J Pharmacol* 107:1181-91, 1992.
37. Gillis CN, Chen X y Merker MM: Lisinopril and Ramiprilat protection of the vascular endothelium against free radical-induced functional injury. *J Pharmacol Exp Ther* 262:212-6, 1992.