

## Efecto del trandolapril y su combinación a dosis fija con verapamilo sobre los niveles de biopterinas en pacientes diabéticos hipertensos

Montserrat Berenice Duran-Salgado,\* Hilda Vargas-Robles,\*\* Leonardo Del Valle-Mondragón,\*\*\*  
Bruno Alfonso Escalante-Acosta,\*\*\*\* Alberto Francisco Rubio-Guerra\*

### RESUMEN

La tetrahidrobiopterina (BH4) es un cofactor esencial para la síntesis de óxido nítrico; la disminución de su síntesis o su oxidación a dihidrobiopterina (BH2) provoca disfunción endotelial y aterosclerosis. Se ha postulado que el índice BH4/BH2 sea más importante que los valores de BH4 para mantener una adecuada función endotelial. Tanto los inhibidores de enzima convertidora como los calcioantagonistas han mostrado que mejoran la función endotelial.

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del trandolapril (T) y su combinación a dosis fija con verapamilo (TV) en los niveles de biopterinas y en el índice BH4/BH2 en pacientes hipertensos con diabetes mellitus tipo 2.

**Material y método:** cuarenta pacientes hipertensos con diabetes mellitus tipo 2, sin tratamiento antihipertensivo previo, fueron asignados aleatoriamente a alguno de dos grupos de 20 pacientes. Un grupo recibió TV dosis 2/180 mg una vez al día y el otro grupo recibió T, dosis 2 mg diarios. En ambos grupos el tratamiento duró 3 meses. BH4 y BH2 se midieron por cromatografía líquida de fase reversa con fluorescencia al inicio y el final del estudio. Los pacientes fueron evaluados mensualmente y se registró presión arterial, glucemia de ayuno y efectos adversos. El análisis estadístico se realizó con las pruebas de Shapiro-Wilk y Wilcoxon.

**Resultados:** Todos los pacientes presentaron una reducción significativa de la presión arterial, los 2 regímenes terapéuticos aumentaron los niveles de BH4 (TV: 3.85 a 9.95; T: 5.23 a 10.13) y redujeron también los niveles de BH2 (TV: 9.94 a 6.87; T: 8.36 a 7.47) además de mejorar el índice BH4/BH2 (TV: 0.39 a 1.45; T: 0.63 a 1.35). Sin embargo, el incremento de BH4 con TV fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que el observado con T. Lo mismo sucedió con el índice BH4/BH2 ( $p < 0.01$ ). Ningún paciente presentó efectos adversos.

**Conclusión:** Nuestros resultados muestran que dosis fija de TV brinda un beneficio mayor sobre los niveles de las biopterinas que la monoterapia. Esto explica, al menos en parte, los efectos favorables de las combinaciones que incluyen un calcioantagonista con un inhibidor de la enzima convertidora en pacientes hipertensos de alto riesgo cardiovascular.

**Palabras clave:** tetrahidrobiopterina, dihidrobiopterina, trandolapril, verapamilo, pacientes hipertensos con diabetes tipo 2.

### ABSTRACT

Tetrahydrobiopterin (BH4) plays an essential role in regulating nitric oxide (NO) synthesis. When BH4 oxidized to dihydrobiopterin (BH2), leads to endothelial dysfunction and atherosclerosis. Recent studies show that BH4/BH2 ratio may be even more important than absolute BH4 for an adequate endothelial function. Both calcium channel blockers (CCB) and angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI) have shown to improve endothelial function. The aim of this study was to evaluate the effect of trandolapril (T) and its fixed-dose combination with verapamil (TV) on biopterin levels and in BH4/BH2 ratio in hypertensive type-2 diabetic patients.

**Material and Methods:** Forty type-2 diabetic patients with never-treated hypertension were randomly assigned to two groups. One group received TV 2/180 mg once a day; the other group received T 2 mg once a day. Medication time in both groups: 3 months. BH4 and BH2 were measured by reverse phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection at the beginning and end of the study. Patients were evaluated monthly for blood pressure, fasting serum glucose and adverse events. Statistical analysis was performed with the Shapiro-Wilk and Wilcoxon test.

**Results:** All patients experienced a significant reduction of blood pressure. Both therapeutics regimens increased the levels of BH4 (TV 3.85 to 9.95, T 5.23 to 10.13) and decreased the levels of BH2 (TV 9.94 to 6.87, T 8.36 to 7.47), and improved the BH4/BH2 ratio (TV 0.39 to 1.45, T 0.63 to 1.35). However TV produces a significantly greater increase in the BH4 levels ( $p < 0.05$ ) and in the BH4/BH2 ratio ( $p < 0.01$ ) when compared with monotherapy. No patient suffered adverse events.

**Conclusion:** Our results shown that a fixed dose of TV has more beneficial effects on biopterin parameters than monotherapy. This may explain the beneficial effects seen with combinations that included a CCB with an ACEI in high risk hypertensive patients.

**Key words:** Tetrahydrobiopterin, Dihydrobiopterin, Trandolapril, Verapamil, Hypertensive diabetic patients.

**E**l endotelio vascular tiene como función conservar la integridad del sistema vascular. Entre las actividades que realiza para lograrlo destacan: controlar la contracción y relajación vascular, la fibrinólisis, inhibir la adhesión plaquetaria y de leucocitos, evitar la proliferación de las células musculares y mantener un estado antitrombótico y antiinflamatorio.<sup>1</sup>

El mecanismo fundamental para un buen funcionamiento endotelial es la producción y disponibilidad constante de óxido nítrico. La disfunción endotelial se presenta cuando la biodisponibilidad del óxido nítrico (ON) disminuye (por reducción en la síntesis o aumento en la degradación), lo que lleva a un estado vasoconstrictor, proliferativo, proinflamatorio y procoagulante; esta situación facilita el daño vascular y el desarrollo de hipertensión y aterosclerosis.<sup>2</sup>

La BH4 es un cofactor indispensable para el funcionamiento de la sintasa de óxido nítrico (eNOS); cada monómero de la sintasa tiene un sitio de unión al cofactor en el dominio de oxigenasa de la enzima, como eNOS es funcionalmente un dímero se requieren 2 moléculas de BH4 para una adecuada actividad de la enzima.<sup>2</sup> Durante este proceso, que es completamente dependiente de BH4, el cofactor dona electrones al complejo Heme-Fe-O-O de la enzima permitiendo la oxidación de L-arginina y la liberación de óxido nítrico. De esta manera se transforma en el radical trihidrobiopterina-H<sup>+</sup> (BH3-H<sup>+</sup>) que es reducido a BH4 por la acción de las flavinas ligadas a eNOS mediante transferencia de electrones.<sup>2</sup>

Cuando las concentraciones de BH4 disminuyen en la célula endotelial (por disminución en su síntesis o aumento

en la oxidación) hay un desacoplamiento entre el oxígeno y el proceso de oxidación de L-arginina, lo que genera aniones superóxido y menor producción de óxido nítrico. Este hecho da lugar a disfunción endotelial.<sup>3</sup>

Por otra parte, el aumento de estrés oxidativo dentro de la célula endotelial favorece que la BH4 se oxide a dihidrobiopterina (BH2) que carece de actividad como cofactor pero que compite con la BH4 por el dominio de oxigenasa del eNOS; esto interfiere con la actividad de la enzima, reduce la producción de ON y genera disfunción endotelial (Figura 1).<sup>2</sup>

Recientemente se ha postulado que el índice BH4/BH2 es más importante que los valores de BH4 para mantener un adecuado funcionamiento de la eNOS.<sup>4</sup>

Diversos fármacos, como las estatinas y algunos antihipertensivos aumentan la concentración de BH4 y también el índice BH4/BH2. Es probable que ello contribuya a la normalización de la función endotelial que acompaña su uso.<sup>2</sup>

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del trandolapril (T), y de su combinación a dosis fija con verapamilo (TV), en los niveles de las biopterinas y en el índice BH4/BH2 en pacientes hipertensos con diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

## MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio clínico incluimos 40 pacientes hipertensos con diabetes tipo 2 sin tratamiento antihipertensivo previo. Después de recabar su consentimiento informado fueron asignados aleatoriamente a uno de dos grupos de 20 pacientes cada uno. Un grupo recibió la combinación a dosis fija de trandolapril y verapamilo (TV): 2/180 mg una vez al día; el otro grupo recibió trandolapril (T): 2 mg diarios. En ambos grupos la duración del estudio fue de tres meses. Los pacientes fueron evaluados mensualmente para registró de su presión arterial, glucemia en ayuno y efectos adversos.

Se excluyeron pacientes con alguno de los siguientes diagnósticos: insuficiencia cardíaca, hepática (aminotransferasas séricas aumentadas a más del doble de su límite superior normal) o renal (creatinina > 2.5 mg/dL), diabetes mellitus tipo 1, diabetes mellitus tipo 2 descompensada (glucemia > 200 mg/dL), enfermedades reumáticas, neoplasias, antecedentes de infarto agudo de miocardio o enfermedad vascular cerebral; historia de abuso de

\* Hospital General de Ticomán SSDF, México DF.

\*\* Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, México DF.

\*\*\* Instituto Nacional de Cardiología. México DF.

\*\*\*\* CINVESTAV Monterrey, Nuevo León. México.

Correspondencia: Dr. Alberto Francisco Rubio Guerra. Plan de San Luis S/N esq Bandera. México 07330 DF. Tel. y fax: (52 555) 5754 13 90. Correo electrónico: clinhta@hotmail.com  
Recibido: 5 de marzo 2012. Aceptado: abril 2012.

Este artículo debe citarse como: Duran-Salgado MB, Vargas-Robles H, Del Valle-Mondragón L, Alfonso Escalante-Acosta B, Rubio-Guerra AF. Efecto del trandolapril y su combinación a dosis fija con verapamilo sobre los niveles de biopterinas en pacientes diabéticos hipertensos. *Med Int Mex* 2012;28(3):244-248.

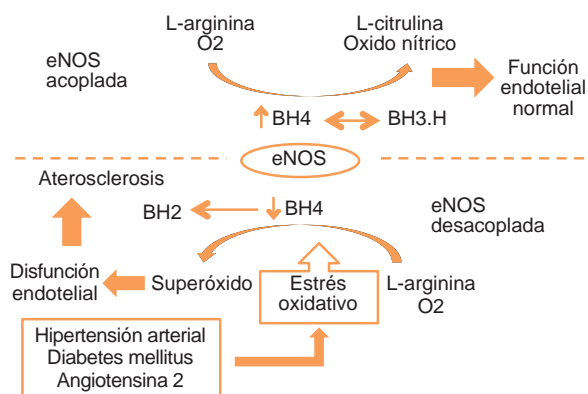


Figura 1.

alcohol o drogas psicotrópicas, antecedente de ingesta de antihipertensivos, estatinas y glitazonas.

Todas las muestras se tomaron por punción venosa (aproximadamente 15 mL), después de un ayuno de 8 horas, en tubos sin anticoagulante. Las muestras para química sanguínea y perfil de lípidos se enviaron al laboratorio y las requeridas para determinación de biop-terinas se centrifugaron a 800 rpm durante 15 minutos, posteriormente se separó el suero y se guardó a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta 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 del colesterol LDL se realizó mediante el método de Friedewald en pacientes que presentaron valores de triglicéridos  $< 400 \text{ mg/dL}$ ; en quienes tenían valores superiores el LDL se determinó directamente.

Las BH4 y BH2 se midieron por cromatografía líquida de fase reversa con fluorescencia al inicio y el final del estudio. El análisis estadístico se realizó con las pruebas de Shapiro-Wilk y Wilcoxon. Los datos se presentan como promedios  $\pm$  desviaciones estándar y se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ .

El estudio fue aprobado por el comité de bioética e investigación de nuestro hospital y se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki. Los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos.

## RESULTADOS

Las características basales en ambos grupos se muestran en el cuadro 1. Todos los pacientes presentaron una reducción significativa de la presión arterial. En el grupo con dosis fija de TV ésta disminuyó de  $174 \pm 12/94 \pm 8 \text{ mm Hg}$  a  $131 \pm 9/79 \pm 4 \text{ mm Hg}$  ( $p < 0.005$ ); en el grupo tratado solamente con T de  $176 \pm 15/92 \pm 13 \text{ mm Hg}$  a  $134 \pm 12/81 \pm 7 \text{ mm Hg}$  ( $p < 0.005$ ).

Los dos regímenes terapéuticos aumentaron los niveles de BH4 (TV: 3.85 a 9.95; T: 5.23 a 10.13) y redujeron los de BH2 (TV: 9.94 a 6.87; T: 8.36 a 7.47). Ambos tratamientos mejoraron el índice BH4/BH2 (TV: 0.39 a 1.45; T: 0.63 a 1.35). Sin embargo, al analizar estadísticamente los resultados encontramos que el incremento de BH4 con dosis fija de TV fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que el observado únicamente con T. Lo mismo sucedió con el índice BH4/BH2 ( $p < 0.01$ ).

Ningún paciente tuvo cambios significativos en la frecuencia cardíaca: en el grupo TV la modificación fue de  $76 \pm 4 \text{ X'}$  a  $75 \pm 5 \text{ X'}$  y en el grupo T de  $76 \pm 7 \text{ X'}$  a  $76 \pm 5 \text{ X'}$  ( $p > 0.05$ ).

Ningún paciente presentó efectos adversos.

## DISCUSIÓN

En el manejo del paciente diabético con hipertensión arterial las guías de tratamiento recomiendan iniciar con un inhibidor del sistema renina-angiotensina-aldosterona.<sup>5,6</sup> Sin embargo, la mayoría de los pacientes va a requerir al menos dos fármacos para alcanzar la meta terapéutica ( $< 130/80 \text{ mm Hg}$ ); en tal caso las mismas guías sugieren agregar un segundo agente con distinto mecanismo de acción, usualmente un antagonista del calcio o un diurético tiazídico.

En este estudio encontramos que la combinación a dosis fija de trandolapril con verapamilo produjo una mejoría de los valores de biop-terinas más acentuada que la monoterapia con trandolapril; es importante señalar que nuestros pacientes no habían recibido estatinas ni antihipertensivos que se ha demostrado que modifican los valores de las biop-terinas, lo cual hubiera introducido un sesgo.<sup>7</sup>

La hipertensión y la DM2 son promotores de disfunción endotelial e inflamación vascular, ambas entidades clínicas son precursoras del desarrollo de aterosclerosis; de igual manera los efectos proinflamatorios de la angiotensina 2 son bien conocidos.<sup>8</sup>

**Cuadro 1.** Características basales de los pacientes

	TV	T	p
Edad	59.6 ± 9.1 Años	60 ± 9.2	Ns
Sexo (M/F)	8/12	7/13	Ns
Glucemia basal	133 ± 29	135 ± 30	Ns
Índice de masa corporal	30.4 ± 5	30.4 ± 4	Ns
LDL	126.5 ± 27	125 ± 29	Ns
Presión arterial	174 ± 12/94 ± 8 mm Hg	176 ± 15/92 ± 13 mm Hg	Ns
Tiempo de evolución de la diabetes mellitus	8.52 años	8.46 años	Ns
Tiempo de evolución de la hipertensión	11.4 años	11.3 años	Ns

Como se mencionó previamente una menor disponibilidad de BH4 provoca un desacople entre eNOS y L-arginina; esto ocasiona que la enzima produzca radicales libres de oxígeno en lugar de óxido nítrico. Particularmente, el peroxinitrito oxida la BH4 a BH2 dando lugar a disfunción endotelial.<sup>2</sup> De hecho, una de las principales causas de disfunción endotelial en animales de experimentación con resistencia a la insulina es la reducción en la disponibilidad de BH4.<sup>9</sup>

El déficit de BH4 en las células endoteliales se ha involucrado entre los mecanismos que llevan a la patología vascular, incluida la aterosclerosis<sup>10</sup> y algunos autores han propuesto que la oxidación de BH4 a BH2 sea la causa más común de disfunción endotelial que conduce a enfermedad vascular.<sup>11</sup> Se sabe que la BH4 reduce la inflamación de la pared arterial y la expresión de moléculas de adhesión en aortas de rata,<sup>12</sup> ambas situaciones están involucradas en el desarrollo de aterosclerosis.<sup>1,2</sup> El aumento en los valores de la BH4, pero fundamentalmente la mejoría en el índice BH4/BH2 que, como se mencionó previamente, parece ser más importante que los valores de la BH4 para mantener un adecuado funcionamiento de la eNOS<sup>4</sup> podría tener implicaciones terapéuticas.

En el estudio *Avoiding Cardiovascular Events Through Combination Therapy in Patients Living With Systolic Hypertension* (ACCOMPLISH) la combinación a dosis fija de benazeprilo/amlodipina fue superior a la combinación benazeprilo/diurético para reducir las complicaciones renales<sup>13</sup> y la mortalidad cardiovascular<sup>14</sup> a pesar de haberse dado una reducción similar de la presión arterial en ambos grupos; en dicho estudio 60% de los pacientes eran diabéticos. Una de las razones del menor número de desenlaces en quienes recibieron la combinación benazeprilo/

amlodipina en este estudio podría ser la mejoría inducida sobre la función endotelial a través de las concentraciones de biopterinas, aunque este hecho requiere ser confirmado en otro estudio.

Aunque sería esperable una reducción de la frecuencia cardíaca en los pacientes tratados con verapamilo no la encontramos en este estudio; no tenemos una explicación pero lo hemos reportado previamente y podría deberse a una respuesta idiosincrática de los mexicanos.<sup>8,15</sup>

En conclusión, nuestros resultados muestran que aunque ambos manejos mejoran los niveles de biopterinas, la combinación a dosis fija de trandolapril/verapamilo (TV) produce niveles mayores de BH4 y una mejoría en el índice BH4/BH2 al compararse con la monoterapia con trandolapril (T).

Esto puede explicar, al menos parcialmente, los resultados de algunos estudios que muestran que las combinaciones que incluyen un inhibidor del eje renina-angiotensina con un antagonista del calcio reducen el daño a órgano blanco por mecanismos que no están relacionados con sus efectos antihipertensivos.

## REFERENCIAS

1. Rubio AF, Vargas H, Maceda A, Vargas G, Rodriguez L, Escalante BA. Correlation between the levels of circulating adhesion molecules and atherosclerosis in hypertensive type-2 diabetic patients. *Clin and Experiment Hypertens* 2010;32:308-310.
2. Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Ramos-Brizuela LM, Escalante-Acosta BA. Is tetrahydrobiopterin a therapeutic option in diabetic hypertensive patients? *Integr Blood Press Contr* 2010;3:125-132.
3. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:9220-9225.

4. Takeda M, Yamashita T, Shinohara M, Sasaki N, Takaya T, Nakajima K y cols. Plasma tetrahydrobiopterin/dihydrobiopterin ratio. A possible marker of endothelial dysfunction. *Cir J* 2009;955-962.
5. The Seven report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of high blood pressure. JNC 7. Complete version. *Hypertension* 2003;42:1206-1252.
6. Programa de Salud del Adulto y del Anciano del Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades de la Secretaría de Salud. Guía de Tratamiento Farmacológico y Control de la Hipertensión Arterial Sistémica. *Rev Mex Cardiol* 2011;22:1A-21A.
7. Antoniadou C, Bakogiannis C, Leeson P, Guzik TJ, Zhang MH, Tousoulis D. Rapid, direct effects of statin treatment on arterial redox state and nitric oxide bioavailability in human atherosclerosis via tetrahydrobiopterin-mediated endothelial nitric oxide synthase coupling. *Circulation* 2011;124:335-345.
8. Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Vargas-Ayala G, Rodríguez-López L, Escalante-Acosta BA. The effect of trandolapril and its fixed-dose combination with verapamil on circulating adhesion molecules levels in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Clin Exp Hypertens* 2008;30:682-688.
9. Heitzer T, Krohn K, Albers S, Meinertz T. Tetrahydrobiopterin improves endothelial vasodilation by increasing nitric oxide activity in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000;43:1435-1438.
10. Vázquez-Vivar J. Tetrahydrobiopterin, Superoxide and Vascular Dysfunction. *Free Radic Biol Med* 2009;15(47):1108-1119.
11. Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease. From marvel to menace. *Circulation* 2006;113:1708-1714.
12. Schmidt TS, McNeill E, Douglas G, Crabtree MJ, Hale AB, Khoo J. y cols. Tetrahydrobiopterin supplementation reduces atherosclerosis and vascular inflammation in apolipoprotein E-knockout mice. *Clinical Science* 2010;119:131-142.
13. Bakris GL, Sarafidis PA, Weir MR, Dahlöf B, Pitt B, Jamerson K, Velazquez EJ. Renal outcomes with different fixed-dose combination therapies in patients with hypertension at high risk for cardiovascular events (ACCOMPLISH): a prespecified secondary analysis of a randomised controlled trial. *Lancet* 2010;375:1173-1181.
14. Jamerson K, Weber MA, Bakris GL, Dahlöf B, Pitt B, Shi V, Hester A, Gupta J, Gatlin M, Velazquez EJ. Benazepril plus Amlodipine or Hydrochlorothiazide for Hypertension in High-Risk Patients. *N Engl J Med* 2008;359:2417-2428.
15. Rubio AF, Arceo A, Lozano JJ, Vargas G, Rodríguez L, Ramos LM. Efficacy of a fixed-dose combination of trandolapril-verapamil in patients with stage-2 hypertension inadequately controlled by monotherapy. *Clin Drug Invest* 2005;25:445-451.