

EFECTO DE ATORVASTATINA SOBRE LOS NIVELES DE BIOPTERINAS Y LA RELACIÓN BH4/BH2 EN PACIENTES DIABÉTICOS

Atorvastatina y Biopterinas

ALBERTO FRANCISCO RUBIO GUERRA, PH D. *

LEONARDO DEL VALLE MONDRAGÓN, BSc.**

Recibido para publicación: 07-09-2014 - Versión corregida: 13-10-2014 - Aprobado para publicación: 04-11-2014

Resumen

Objetivo: Evaluar el efecto de atorvastatina sobre los niveles de biopterinas y el índice BH4/BH2 en pacientes con diabetes tipo 2. **Materiales y Métodos:** 20 pacientes con diabetes tipo 2, sin tratamiento previo con estatinas ni inhibidores del eje renina-angiotensina, recibieron atorvastatina 10 mg una vez al día por 3 meses. En todos ellos 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, perfil de lípidos y efectos adversos. El análisis estadístico se realizó con las pruebas de Shapiro-Wilk y Wilcoxon. **Resultados:** El manejo con atorvastatina aumentó los niveles de BH4 (5,4 a 9,1, $p=0,047$) y redujo los de BH2 (7,4 a 6,99, $p=0,60$), además de mejorar el índice BH4/BH2 (0,83 a 1,85 $p=0,016$). Ningún paciente presentó efectos adversos. **Conclusión:** Nuestros resultados muestran que atorvastatina brinda un beneficio sobre los niveles de las biopterinas. Esto explica, al menos en parte, los efectos favorables de las estatinas en pacientes diabéticos cardiovascular.

Palabra Clave: Tetrahidrobiopterina, dihidrobiopterina, atorvastatina, diabetes mellitus tipo 2.

Rubio-Guerra AF, Del Valle-Mondragón L. Efecto de atorvastatina sobre los niveles de biopterinas y la relación bh4/bh2 en pacientes diabéticos. Arch Med (Manizales) 2014; 14(2):231-5.

Evaluate the effect of atorvastatin on biopterin levels and the BH4/BH2 ratio in hypertensive type-2 diabetic patients

Summary

Objective: To evaluate the effect of atorvastatin on biopterin levels and the BH4/BH2 ratio in hypertensive type-2 diabetic patients. **Material and Methods:** 20 type-2 diabetic patients' naïves to statins and inhibitors of the renin angiotensin systems received atorvastatin 10 mg once a day during 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, lipid profile and adverse events. Statistical analysis was performed with the Shapiro-Wilk and Wilcoxon test. **Results:** All patients experienced a significant reduction of lipid values. Atorvastatin increased the levels of BH4 (5.4 to 9.1, $p=0.047$), decreased the levels of BH2 (7.4 to 6.99, $p=0.60$), and improved the BH4/BH2 ratio (0.83 to 1.85 $p=0.016$). No patient suffered adverse events. **Conclusion:** Our results shown that atorvastatin has beneficial effects on biopterin parameters. This may explain, at least in part, the cardiovascular effects seen with statins in diabetic patients.

Key word: Tetrahydrobiopterin, dihydrobiopterin, atorvastatin, diabetic patients.

Introducción

El endotelio vascular se encarga de conservar la integridad del sistema vascular, para ello entre sus funciones 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.¹

El mecanismo fundamental para lograrlo es mantener una biodisponibilidad constante de óxido nítrico. La disfunción endotelial se presenta cuando la disponibilidad del óxido nítrico (ON) disminuye (sea por reducción en la síntesis o aumento en la degradación), lo que lleva a un estado que facilita el daño vascular, y el desarrollo de aterosclerosis.²

Para el adecuado funcionamiento de la síntesis de óxido nítrico (eNOS), es indispensable

la tetrahydrobiopterina (BH4)². El proceso es totalmente dependiente de BH4, quien dona electrones a la enzima, permitiendo así la oxidación de L-arginina y la liberación de óxido nítrico.²

Cuando los niveles celulares de BH4 decrecen, ya sea por disminución en su síntesis o aumento en la oxidación a dihydrobiopterina (BH2), ocurre el 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.³

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

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.⁴

Diversos fármacos, como las estatinas, aumentan los niveles de BH4, y es probable que ello contribuya a la normalización de la función endotelial y a algunos efectos pleiotrópicos que acompañan su uso², pero no se ha reportado su efecto sobre BH2 o el índice BH4/BH2.

En vista de las consideraciones anteriores el objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la atorvastatina en los niveles de biopterinas y el índice BH4/BH2 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

Materiales y métodos

En este estudio clínico, 20 pacientes con diabetes tipo 2 sin tratamiento previo con inhibidores del eje renina angiotensina ni estatinas, quienes, previo consentimiento informado, recibieron atorvastatina 10 mg c/24 horas, la duración del estudio fue de 3 meses. Los pacientes fueron evaluados mensualmente para registró de presión arterial, glucemia de ayuno y efectos adversos

Se excluyeron pacientes con alguno de los siguientes diagnósticos: Hipertensión arterial, Insuficiencia cardíaca, hepática (aminotransferasas séricas aumentadas a más del doble de su límite superior normal) y/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 del miocardio o enfermedad vascular cerebral. Historia de abuso de 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 usadas para determinación de biopterinas se centrifugaron a 800 rpm durante 15 minutos, posteriormente se separó el suero y se guardó a menos 70° C hasta ser procesado.

Se hicieron en forma inmediata las determinaciones de glucosa sérica (glucosa oxidasa), creatinina sérica (JAFÉ), 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 tenían valores superiores a esos, se determinaron directamente.

BH4 y BH2 se midieron por cromatografía líquida de fase reversa con fluorescencia al inicio y el final del estudio, por personal que desconocía a que grupo pertenecían los pacientes. El análisis estadístico se realizó con las pruebas de Shapiro-Wilk y Wilcoxon, Los datos se presentan como media $\pm$ desviación estándar, siendo significativa una $p < 0,05$.

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

Resultados

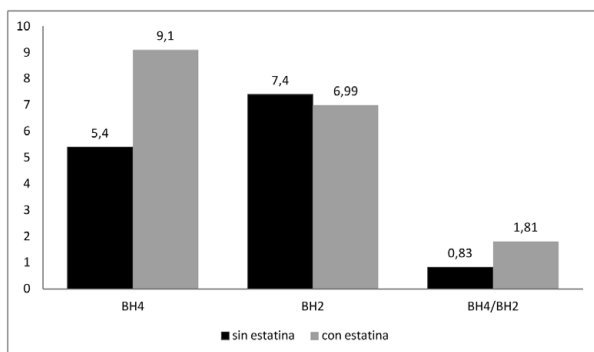
Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 1

Todos los pacientes presentaron una reducción significativa de las cifras de lipoproteínas de baja densidad (LDL), de $154,35 \pm 18,8$ a $104,75 \pm 12,5$ mg/dl $p < 0,01$.

Atorvastatina aumentó significativamente los niveles de BH4 (5,4 a 9,1, $p = 0,047$), y aunque redujo los de BH2, no alcanzó significancia estadística (7,4 a 6,99, $p = 0,60$), Atorvastatina mejoró en forma importante el índice BH4/BH2 (0,83 a 1,85 $p = 0,016$). [Figura 1]. Ningún paciente presentó efectos adversos.

Tabla 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Edad (años)	54±9,2
Sexo (M/F)	8/12
Glucemia (mg/dl)	137,1±273±10 ^{ry of DM2}
Hb A1c	6
Lipoproteínas de baja densidad (mg/dl)	154,35±18
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	32,4±5,1
Presión arterial (mm Hg)	122/72
Historia de DM2 (años)	8,8

*Figura 1. Modificaciones en los niveles de Biopterinas con el manejo.*

Discusión

En el manejo del paciente diabético, las guías de manejo recomiendan el uso de estatinas independientemente de las cifras de colesterol, en los pacientes diabéticos mayores de 40 años con por lo menos otro factor de riesgo cardiovascular⁵, de hecho, en el Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS), el uso de atorvastatina redujo el riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes diabéticos tipo 2 en forma independiente a los niveles de lípidos de los pacientes.⁶

En este estudio encontramos que atorvastatina produjo una mejoría de los valores de biop-terinas, y aunque el efecto de estatinas sobre BH4 ya estaba descrito, el nuestro parece ser el primer reporte sobre la acción de atorvastatina sobre los niveles de BH2 y el índice BH4/BH2. Es importante señalar que nuestros pacientes no habían recibido inhibidores del eje renina

angiotensina ni estatinas, ya que estos agentes han mostrado modificar los valores de BH4, lo que hubiera sido causa de sesgo.⁷

Antonianides y cols, encontraron que atorvastatina aumenta la biodisponibilidad de óxido nítrico en arterias mamarias de pacientes que iban a ser sometidos a cortocircuito coronario⁷, y que este efecto es independiente a los cambios en los valores de lípidos, y esta mediado por un incremento en la actividad de BH4 (como en nuestro estudio), sin embargo, el estudio no evaluó el efecto de la estatina sobre BH2 ni sobre el índice BH4/BH2

Como se mencionó previamente, una menor disponibilidad de BH4 provoca un desacople entre eNOS y L-arginina, ello ocasiona que la enzima produzca radicales libres de oxígeno en lugar de óxido nítrico, particularmente el peroxi-nitrito oxida BH4 a BH2, dando lugar a disfunción endotelial². 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 BH4.⁸

El déficit de BH4 en las células endoteliales se ha involucrado entre los mecanismos que llevan a la patología vascular, incluida la aterosclerosis⁹, y algunos autores han propuesto que la oxidación de BH4 a BH2 sea la causa más común de disfunción endotelial que lleva a enfermedad vascular¹⁰. Se sabe que BH4 reduce la inflamación de la pared arterial y la expresión de moléculas de adhesión en aortas de rata¹¹, ambas situaciones están involucradas en el desarrollo de aterosclerosis^{1,2}. El aumento en los valores de BH4, pero fundamentalmente la mejoría en el índice BH4/BH2, -que como se mencionó previamente, parece ser más importante que los valores de BH4 para mantener un adecuado funcionamiento de la eNOS⁴-, podría tener implicaciones pronósticas y terapéuticas.

Rubio y cols encontraron que el índice BH4/BH2 tiene una correlación inversa significativa con el grosor íntima media, el cual se asocia directamente con riesgo de infarto de miocardio y enfermedad vascular cerebral¹², por lo que

nuestros resultados explican, al menos en parte, la reducción en la incidencia de complicaciones vasculares en los pacientes diabéticos que reciben estatinas.

Los resultados del presente estudio muestran que atorvastatina aumenta los niveles BH4 y mejora el índice BH4/BH2.

Esto puede explicar, al menos parcialmente, los resultados de algunos estudios que muestran que las estatinas reducen el

daño a órgano blanco por mecanismos que no están relacionados con sus efectos hipolipemiantes.

Es necesario mencionar, como limitación a nuestro estudio, es que la muestra es pequeña.

Conflictos de interés: No tenemos conflictos de interés.

Fuentes de financiación: Autofinanciado.

Literatura citada

1. Rubio AF, Vargas H, Maceda A, Vargas G, Rodríguez 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, et al. **Plasma tetrahydrobiopterin/dihydrobiopterin ratio. A possible marker of endothelial dysfunction.** *Cir J* 2009;955-962.
5. American Diabetes Association. **Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes-2013.** *Diabetes Care* 2013; 36:S4-S10.
6. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, et al. **Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial.** *Lancet* 2004;364:685-96.
7. Antoniadou C, Bakogiannis C, Leeson P, Guzik TJ, Zhang MH, Tousoulis D, et al. **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;124:335-45.
8. 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.
9. Vázquez-Vivar J. **Tetrahydrobiopterin, Superoxide and Vascular Dysfunction.** *Free Radic Biol Med* 2009;15; 47:1108-1119.
10. Förstermann U, Münzel T. **Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease. From marvel to menace.** *Circulation* 2006;113:1708-1714.
11. Schmidt TS, McNeill E, Douglas G, Crabtree MJ, Hale AB, Khoo J, et al. **Tetrahydrobiopterin supplementation reduces atherosclerosis and vascular inflammation in apolipoprotein E-knockout mice.** *Clinical Science* 2010;119:131-142.
12. Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Del Valle-Mondragon L, Maceda-Serrano A, Huerta-Ramirez S, Duran-Salgado MB, Escalante-Acosta BA. **Correlation between biopterin levels and intimal-media thickness in type-2 diabetic hypertensive patients.** *J Diabetes Metab Disord* 2014;13:6.

