

DEFECTO EN LA HOMEOSTASIS DEL OXIDO NITRICO
MECANISMO COMUN SUBYACENTE DE LA INSULINO-RESISTENCIA,
LA HIPERACTIVIDAD SIMPATICA Y LA MORBI-MORTALIDAD CARDIOVASCULAR

MARCOS SCHWAB, JONATHAN BLOCH, HERVE DUPLAIN, CLAUDIO SARTORI, URS SCHERRER

Département de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse

Resumen La incidencia de la obesidad y de la resistencia a la insulina con sus complicaciones asociadas, como la hipertensión arterial y el aumento de la morbi-mortalidad cardiovascular, alcanzan hoy en día proporciones epidémicas y representan un problema mayor de salud pública. En los últimos años se ha demostrado que la administración de insulina, además de sus efectos metabólicos, posee efectos cardiovasculares importantes. El sistema nervioso simpático y el sistema L-arginina - óxido nítrico son los mediadores centrales de estas acciones cardiovasculares de la insulina. Mostramos, gracias a estudios realizados en animales y en humanos, que no sólo un déficit de la síntesis del óxido nítrico (NO), sino también un aumento exagerado en su producción representan un defecto subyacente central de las anomalías metabólicas, cardiovasculares y del sistema nervioso simpático que caracterizan a la insulino resistencia. Mostramos cómo estos resultados establecen el fundamento científico para la utilización de sustancias farmacológicas capaces de liberar de manera prolongada cantidades fisiológicas de NO o de inhibidores de su sobreproducción como futuros tratamientos para la resistencia a la insulina y sus complicaciones asociadas.

Palabras clave: insulino resistencia, óxido nítrico, endotelio, hipertensión arterial, sistema nervioso autónomo, mitocondria

Abstract *Defective nitric oxide homeostasis. Common underlying mechanism between insulin resistance, sympathetic overactivity and cardiovascular morbidity and mortality.* Obesity, insulin resistance and associated cardiovascular complications are reaching epidemic proportions worldwide and represent a major public health problem. Over the past decade, evidence has accumulated indicating that insulin administration, in addition to its metabolic effects, also has important cardiovascular actions. The sympathetic nervous system and the L-arginine-nitric oxide pathway are the central players in the mediation of insulin's cardiovascular actions. Based on recent animal and human research, we demonstrate that both defective and augmented NO synthesis represent a central defect triggering many of the metabolic, vascular and sympathetic abnormalities characteristic of insulin-resistant states. These observations provide the rationale for the use of pharmaceutical drugs releasing small and physiological amounts of NO and/or inhibitors of NO overproduction as a future treatment for insulin resistance and associated comorbidities.

Key words: insulin resistance, nitric oxide, endothelium, hypertension, autonomic nervous system, mitochondria

A pesar de que los efectos vasodilatadores y de activación del sistema nervioso simpático inducidos por la insulina han sido descriptos luego de la introducción de esta hormona en la práctica clínica, sólo en los últimos años el estudio de estos efectos ha suscitado un nuevo interés. Esto se debe en parte a la evidencia epide-

miológica sobre la relación existente entre la resistencia a la insulina y la morbi-mortalidad cardiovascular^{2,3} y, por otro lado, a la existencia de una relación directa entre los efectos vasculares de la insulina y su efecto metabólico a nivel del músculo esquelético⁴. Estos efectos cardiovasculares de la insulina son mediados por dos sistemas principales que interactúan entre ellos: el sistema nervioso central y el endotelio vascular mediante la producción de óxido nítrico (NO). Aquí resumiremos los efectos de la insulina sobre el endotelio vascular y sobre el sistema nervioso simpático en la regulación de sus efectos metabólicos, y mostraremos de qué manera la alteración de este efecto interviene en la patogénesis de la resistencia a la insulina y en su predisposición al desarrollo

Recibido: 10-VII-2007

Aceptado: 27-IX-2007

Dirección postal: Dr. Urs Scherrer, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, BH 10.642, CH-1011 Lausanne, Suisse
 Fax: (+4121) 314 0928 e-mail: Urs.Scherrer@chuv.ch

de enfermedades cardiovasculares. Mostraremos también la importancia del NO en la fisiología y la fisiopatología de la insulino-resistencia y sus complicaciones asociadas. Para terminar, mostraremos que los fármacos capaces de aumentar la biodisponibilidad del NO pueden constituir en el futuro un tratamiento para la insulino-resistencia, el síndrome metabólico y la diabetes.

Los efectos cardiovasculares de la insulina en el sujeto sano

El dosaje de la concentración de catecolaminas circulantes, la cuantificación del *spillover* de la noradrenalina o la medición directa de la actividad simpática por microneurografía demuestran que la administración aguda de insulina estimula la actividad nerviosa simpática. En el hombre, esta activación se produce específicamente a nivel de los vasos de los músculos esqueléticos, principal sitio de acción de los efectos metabólicos de la insulina; y es inducida por la acción directa de la insulina sobre el sistema nervioso central a través de la liberación de neuropéptidos como la corticotropina⁵.

Mientras que la liberación local de noradrenalina o la activación del sistema nervioso simpático inducidos por la insulina deberían inducir una vasoconstricción⁶, varios estudios han demostrado que, sorpresivamente, la administración aguda de insulina disminuye la resistencia vascular y aumenta el flujo sanguíneo muscular^{7, 8}. Esta vasodilatación es inducida por la hiperinsulinemia *per se*, y no por la estimulación del metabolismo glucídico⁹. Además, ella no está ligada a la estimulación de mecanismos colinérgicos o beta-adrenérgicos¹⁰. En 1994, nuestro grupo mostró que esta vasodilatación inducida por la insulina era mediada por la liberación de NO endotelial, ya que esta vasodilatación podía ser abolida mediante la administración de L-NMMA, un inhibidor de la enzima productora de NO (NO sintetasa, NOS)¹¹. Además, en el hombre, la abolición de la vasodilatación por el L-NMMA genera un aumento significativo de la presión arterial durante la administración aguda de insulina¹¹.

Para evaluar si la liberación de NO inducida por la insulina es debida a una estimulación directa a nivel del endotelio vascular, o indirecta a través de la estimulación de las fibras nerviosas simpáticas nitrérgicas, evaluamos la vasodilatación inducida por insulina en sujetos a los que se les había practicado una simpatectomía torácica. Se vio que ésta fue similar en la pierna (normalmente inervada) y en el brazo (simpatectomizado), indicando que la insulina estimula el flujo vascular por la liberación de NO gracias a una acción directa a nivel vascular¹². De acuerdo con esta observación, la administración de insulina en pacientes afectados por una disautonomía (desnervación simpática periférica) induce una hipotensión arterial sistémica¹³.

La coexistencia en el músculo esquelético de una vasodilatación y de una activación del sistema nervioso simpático inducidas por la insulina sugieren la posibilidad de una interacción entre estos dos mecanismos. En efecto, en los individuos simpatectomizados, la vasodilatación inducida por la insulina se produce más rápidamente en el miembro desnervado que en el miembro normalmente inervado, mostrando que la activación simpática limita la vasodilatación inducida por la insulina.

En resumen, estos estudios han determinado que en el sujeto sano la insulina ejerce efectos presores (simpatoexcitación) y depresores (vasodilatación) sobre los vasos de los músculos esqueléticos (Fig. 1). Estos efectos son debidos a una interacción entre insulina, sistema nervioso central y periférico, y síntesis endotelial de NO. Los estudios realizados en pacientes simpatectomizados o con disautonomía han mostrado que, en el sujeto sano, el sistema nervioso simpático limita el efecto depresor de la insulina y, por este efecto, previene el desarrollo de una vasodilatación exagerada y de hipotensión arterial. Inversamente, la vasodilatación inducida por la administración aguda de insulina evita la aparición de hipertensión arterial originada por la activación simpática concomitante.

Los efectos cardiovasculares de la insulina en el sujeto insulino-resistente

En el sujeto de peso normal, un aumento leve de la concentración plasmática de insulina induce un aumento significativo de la actividad simpática¹⁴. Esto sugiere que la hiperinsulinemia crónica que caracteriza a la insulino-resistencia se asocia a una hiperactividad simpática per-

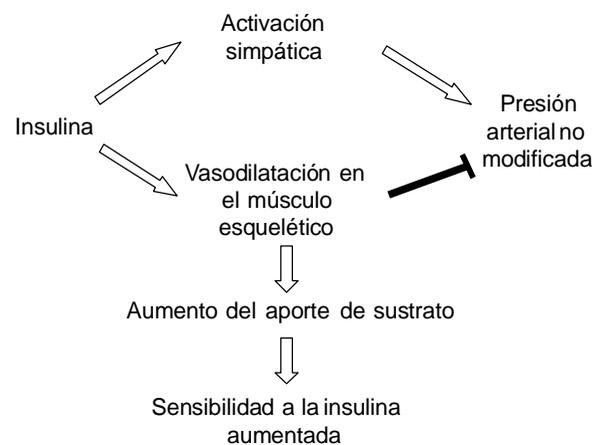


Fig. 1.— Efectos cardiovasculares de la insulina en el sujeto sano. En el sujeto sano la insulina ejerce efectos presores (activación simpática) y depresores (vasodilatación muscular). Estos efectos se anulan entre sí y la presión arterial no se modifica. La vasodilatación inducida por la insulina aumenta el aporte de sustrato a los músculos y aumenta la sensibilidad a la insulina.

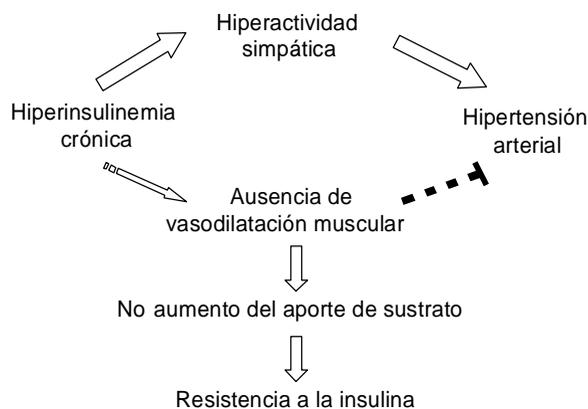


Fig. 2.— **Efectos cardiovasculares de la insulina en el sujeto insulino-resistente.** En el sujeto insulino-resistente, el efecto presor de la insulina es exagerado (hiperactividad simpática) y el efecto depresor es abolido (ausencia de vasodilatación muscular). Este desequilibrio favorece la hipertensión arterial. Por otro lado, la ausencia de vasodilatación inducida por la insulina impide el aumento del aporte de sustrato contribuyendo a la insulino-resistencia.

sistente, lo que ha sido verificado mediante el estudio de sujetos obesos¹⁵.

En el sujeto obeso insulino-resistente, la acción vasodilatadora muscular de la insulina está atenuada^{4, 15, 16} debido a un déficit en la síntesis de NO. La prueba de esto es que la liberación de NO en el tejido muscular está disminuida en pacientes obesos¹⁷, y que esta disminución de la síntesis endotelial de NO está estrechamente ligada a la insulino-resistencia. Además, el estudio *in vitro* de células endoteliales muestra que la estimulación de la síntesis de NO por la insulina y el metabolismo glucídico comparten vías de señalización intracelulares comunes, demostrando que las acciones vasculares y metabólicas de la insulina están ligadas¹⁸.

En resumen, la síntesis de NO por el endotelio está disminuida en sujetos obesos resistentes a la insulina (Fig. 2). Este déficit, que puede ser genético y/o adquirido, contribuye a la ausencia del efecto vasodilatador muscular inducido por la insulina. La activación simpática exagerada que caracteriza a la insulino-resistencia podría estar, por lo tanto, relacionada con este déficit de NO, ya que el mismo tiene un efecto inhibitorio sobre este sistema.

Consecuencias cardiovasculares de la disfunción endotelial y del sistema nervioso simpático en el sujeto insulino-resistente

Múltiples estudios epidemiológicos han demostrado la asociación entre obesidad, resistencia a la insulina e

hipertensión arterial^{2, 3}. Se ha demostrado asimismo que la hiperinsulinemia constituye un factor predictivo independiente de enfermedad coronaria¹⁹. Los mecanismos implicados son desconocidos, pero la insulina misma parecería jugar un rol mayor, ya que el riesgo persiste luego de la instauración de un tratamiento antihipertensor²⁰, y en hijos normotensos de padres con hipertensión arterial y resistencia a la insulina²¹.

La resistencia a la insulina se asocia a una actividad simpática basal aumentada. Esta activación del sistema nervioso simpático es deletérea en varios niveles, ya que aumenta la resistencia vascular periférica y la presión arterial por estimulación alfa-adrenérgica y por activación del sistema renina-angiotensina. La activación simpática exagerada favorece también la aparición de trastornos del ritmo cardíaco. Sobre el plano hematológico, la hiperactividad simpática aumenta el número y la agregación de las plaquetas, favoreciendo el desarrollo y la evolución de las placas ateromatosas²². La unión de todos estos efectos negativos predispone a estos pacientes al desarrollo de eventos isquémicos.

La resistencia a la insulina se asocia igualmente a una disfunción endotelial^{23, 24}, la cual contribuye al desarrollo de hipertensión arterial y al aumento de la morbilidad y la mortalidad cardiovascular.

Déficit en la síntesis de NO: causa común subyacente de las anomalías vasculares, simpáticas y metabólicas de la insulino-resistencia

La "hipótesis vascular" de la resistencia a la insulina, postulada por Laakso y col., propone que la vasodilatación inducida por la insulina aumenta el aporte de sustrato y la captación de glucosa por el músculo⁴. Esta hipótesis ha sido confirmada en ratas transgénicas mostrando claramente que la ausencia de vasodilatación inducida por la insulina (y en consecuencia la disminución del aporte de sustrato al músculo) contribuye de manera significativa a la resistencia periférica a la insulina²⁵.

Nuestro grupo ha sido el primero en formular que un déficit en la síntesis de NO representa el defecto común subyacente responsable de las anomalías metabólicas, simpáticas y vasculares características de la resistencia a la insulina, y también de la prevalencia aumentada de enfermedades cardiovasculares^{8, 26} (Fig. 3).

A continuación mostraremos los efectos del NO en la regulación de la homeostasis glucídica y cardiovascular en modelos animales y en humanos, así como el rol jugado por cada una de las tres isoformas de NO sintetasa (NOS): la endotelial (eNOS), la neuronal (nNOS) y la inducible (iNOS) en la fisiopatología de la insulino-resistencia y del síndrome metabólico.

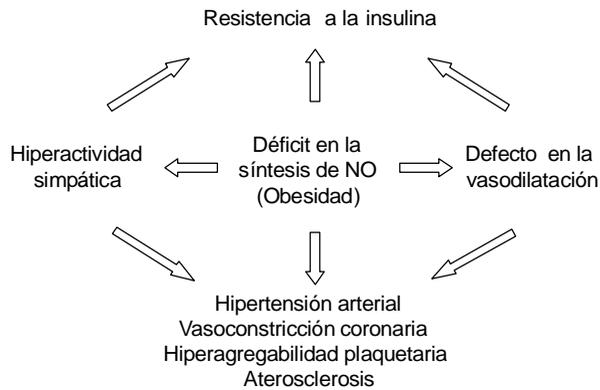


Fig. 3.– **Rol central del déficit en la síntesis del NO en la patogénesis de la insulino-resistencia y de las enfermedades cardiovasculares asociadas.** En el sujeto insulino-resistente, un déficit en la síntesis del NO es responsable de la ausencia de vasodilatación dependiente del endotelio y de la insulina y, por pérdida de la inhibición central, puede inducir una hiperactividad simpática. Estas dos afecciones contribuyen a la resistencia a la insulina que, por sus efectos tróficos, tiene también efectos proterogénicos que predisponen a las enfermedades cardiovasculares.

Un déficit de producción endotelial de NO induce insulino-resistencia, hipertensión arterial y fenotipo de síndrome metabólico

Estudios efectuados en ratas demuestran el rol central jugado por la eNOS en el mantenimiento de la sensibilidad a la insulina y en la regulación de la presión arterial. La técnica del *clamp* euglicémico hiperinsulinémico permite medir la sensibilidad a la insulina²⁷ y ha permitido mostrar que las ratas invalidadas para el gen de la NOS endotelial (eNOS $-/-$) tienen una disminución de la sensibilidad a la insulina de aproximadamente un 40%²⁵. Además, estas ratas poseen una insulinemia en ayunas aproximadamente 60% más elevada que los controles, indicando la existencia de una hiperinsulinemia compensatoria²⁵.

Como era de esperar, estas ratas eNOS $-/-$ que tienen una síntesis de NO endotelial abolida, además de ser insulino-resistentes, son hipertensas. Sin embargo, esta insulino-resistencia no puede explicarse por la hipertensión arterial, ya que en ratas con hipertensión arterial de origen reno-vascular la sensibilidad a la insulina está conservada. Esto indica que en la rata eNOS $-/-$, la resistencia a la insulina es una consecuencia directa de un déficit en la producción de NO. Además, al igual que lo observado en sujetos insulino-resistentes, estos animales tienen abolida la respuesta vasodilatadora muscular inducida por la insulina.

Existe, además, una relación directa entre el aumento del flujo vascular muscular y la tasa de perfusión de

glucosa (marcador de sensibilidad a la insulina) en estos animales, indicando que la ausencia de respuesta del flujo vascular muscular y la consiguiente disminución del aporte de sustrato contribuyen a la resistencia a la insulina en las ratas eNOS $-/-$.

La eNOS también se expresa en la célula muscular esquelética, donde podría modular procesos metabólicos. En concordancia con este concepto, hemos observado que la captación de glucosa en el músculo aislado (*in vitro*), tanto la basal como la estimulada por la insulina, están disminuidas en las ratas eNOS $-/-$ ²⁵. Esto indica que existen mecanismos celulares que contribuyen a la insulino-resistencia. En este contexto, es interesante notar que una disfunción mitocondrial en el tejido muscular contribuye también a la resistencia a la insulina en el humano²⁸ y que un defecto en la síntesis mitocondrial ha sido descrito en estas ratas eNOS $-/-$ ^{29,30}. Por lo tanto, el defecto del metabolismo glucídico en el músculo de las ratas eNOS $-/-$ podría explicarse por la presencia de una disfunción mitocondrial³⁰.

Posteriormente, hemos demostrado que las ratas eNOS $-/-$, además de ser hipertensas e insulino-resistentes, presentan dislipidemia, hiperuricemia e hiperfibrinogenemia³¹, es decir que poseen las características esenciales del síndrome metabólico en el humano. Esta dislipidemia podría explicarse, al menos en parte, por la presencia de una disfunción de la beta-oxidación mitocondrial³⁰.

Mientras que estos datos demuestran la importancia mayor del NO sintetizado por la eNOS en la regulación de la homeostasis metabólica y cardiovascular en las ratas, el traslado de estos conceptos al hombre es difícil, ya que no existe el déficit completo de eNOS en el humano. Sin embargo se han descrito en humanos polimorfismos del gen de la eNOS que inducen una disminución en la síntesis de NO, y que generan insulino-resistencia e hipertensión arterial³². Si bien estas observaciones no permiten establecer en el humano una relación causal entre el déficit parcial de la síntesis endotelial de NO y la resistencia a la insulina, el estudio de ratas heterocigotas (eNOS $+/-$) ha permitido evaluar este concepto. En condiciones normales, estos roedores presentan un fenotipo similar al de las ratas control, pero al someterlos a un estrés ambiental como una dieta rica en grasa, la situación cambia dramáticamente. En esas condiciones, las ratas eNOS $+/-$ desarrollan un fenotipo similar al de las eNOS $-/-$, caracterizado por la presencia de hipertensión arterial y resistencia a la insulina mucho más severa que la observada en el grupo control³³. Esto demuestra que en este modelo murino, un defecto parcial de la síntesis de NO, que en condiciones normales no tiene consecuencias, genera graves complicaciones al someterlo a una dieta rica en grasa.

Por lo tanto, transmitiendo estos conceptos al hombre, podemos hipotetizar que un defecto relativamente

discreto de la síntesis de NO (como el observado en ciertos polimorfismos de la eNOS) asociado a una dieta excesiva y desequilibrada puede contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina en el humano.

Un defecto en la síntesis de NO en el sistema nervioso central induce insulino-resistencia

La forma neuronal de la NOS (nNOS) se encuentra, como su nombre lo indica, en el sistema nervioso central donde interviene en la regulación cardiovascular. Además, encontramos la nNOS en el músculo esquelético donde regula el mecanismo de excitación-contracción. Su rol en la regulación de la sensibilidad a la insulina no ha sido establecido de manera definitiva. Observaciones hechas en ratas indican que la anulación del gen que codifica para la nNOS induce una insulino-resistencia moderada³⁴ ligada, al menos en parte, a una hiperactividad del sistema nervioso simpático³⁵.

Una producción excesiva de NO contribuye a la insulino-resistencia inducida por una dieta rica en grasa

Los datos presentados hasta ahora demuestran que un déficit, incluso discreto, en la producción endógena de NO por la eNOS juega un papel preponderante en la patogénesis de la hipertensión arterial y de la insulino-resistencia. Otros estudios han demostrado que una producción excesiva de NO por la forma inducible de la NOS (iNOS) tiene también consecuencias nefastas sobre la sensibilidad a la insulina.

Mientras que en el sujeto sano la iNOS está ausente del músculo esquelético, se expresa fuertemente en el músculo esquelético del sujeto obeso. Asimismo, la inducción de la expresión de la iNOS por ciertas citoquinas induce el desarrollo de resistencia a la insulina. Para evaluar este concepto *in vivo*, Marette y col. han examinado los efectos de una dieta rica en grasa sobre la sensibilidad a la insulina en ratas iNOS^{-/-} y en controles. Observaron que las ratas iNOS^{-/-} estaban protegidas del efecto negativo inducido por la dieta, mientras que los controles desarrollaron resistencia a la insulina³⁶. Esta resistencia a la insulina estaba ligada a la inducción de la iNOS en el tejido adiposo del músculo esquelético. Estas observaciones indican que, bajo un régimen rico en grasa, la producción incontrolada y excesiva de NO, secundaria a la inducción de la iNOS, tiene efectos nefastos sobre la sensibilidad a la insulina. En línea con estas observaciones, hemos demostrado que al estimular la eliminación de uno de los productos tóxicos formados a partir del exceso de NO, el peroxinitrito, se logra mejorar la sensibilidad a la insulina³⁷. Es concebible que un me-

canismo similar pueda ocurrir en el individuo obeso insulino-resistente.

Estos estudios sirven de base científica para el desarrollo de intervenciones terapéuticas capaces de aumentar la biodisponibilidad del NO y/o de disminuir su sobreproducción como potenciales tratamientos para la insulino-resistencia.

Dadores de NO, nuevo tratamiento para la insulino-resistencia, el síndrome metabólico y la diabetes?

Agentes farmacológicos dadores de NO

Los agentes dadores de NO se presentan de dos maneras: aquellos que liberan directamente el NO (como el NO gaseoso y el nitroprusiato de sodio), y los dadores de NO que necesitan una metabolización enzimática para generar NO (NO-aspirina, nitroglicerina).

Estudios in vitro

Los efectos de los dadores de NO sobre la captación de glucosa por el músculo esquelético son contradictorios. Esto se debe, al menos en parte, a las diferentes concentraciones de NO y a los diferentes modelos experimentales utilizados. La administración de grandes dosis de NO disminuye la captación de glucosa inducida por la insulina en el músculo esquelético³⁸. Contrariamente, otros estudios han mostrado que el NO produce un aumento del transporte de glucosa basal e inducido por la insulina. Este efecto se debe al aumento del transportador de glucosa GLUT4³⁹, a la disminución de la síntesis de glucógeno y al aumento de la oxidación de la glucosa. Por otra parte, los dadores de NO podrían mejorar la función endotelial en los pacientes insulino-resistentes. En los pacientes diabéticos, la producción excesiva de agentes radicales libres oxidantes disminuye la biodisponibilidad de NO endógeno, lo que contribuye a la disfunción endotelial asociada. Esta disfunción es corregida por los dadores de NO, tanto *in vitro* como *in vivo*⁴⁰. Finalmente, los dadores de NO corrigen también la disfunción mitocondrial presente en las ratas eNOS^{-/-}³⁰.

Estudios in vivo

El NO administrado en forma gaseosa representa la forma más directa de administración de NO. A pesar de que este modo de administración hace imposible un tratamiento a largo plazo, se han evaluado los efectos de la administración aguda de otros dadores de NO. En ratas insulino-resistentes, el nitroprusiato permitió normalizar la sensibilidad a la insulina⁴¹. En el hombre, los efectos

del nitroprusiato sobre el metabolismo glucídico son decepcionantes⁴²⁻⁴⁵. Esto podría deberse a que el efecto hipotensor del nitroprusiato induce una activación refleja del sistema nervioso simpático que agrava la resistencia a la insulina⁴⁶. También se ha sugerido que la vasodilatación y el reclutamiento capilar inducidos por el nitroprusiato afectan principalmente a los capilares musculares sin función nutritiva, aumentando así el flujo sanguíneo local sin mejorar la captación muscular de glucosa^{42, 44}. Finalmente, la administración de nitroprusiato aporta probablemente una cantidad suprafisiológica de NO, lo que disminuye la captación de glucosa por el músculo³⁸. De manera similar, la mayor limitación para el uso de la nitroglicerina, otro dador de NO, reside en los efectos hemodinámicos negativos y en el desarrollo de tolerancia ligada a la generación de aniones superóxido⁴⁷.

En razón de estas limitaciones, el interés se ha dirigido al desarrollo de sustancias capaces de liberar dosis fisiológicas de NO por períodos prolongados y sin inducir tolerancia. Para ello, se han modificado sustancias farmacológicas ya existentes agregándoles un compuesto dador de NO, ya sea un éster de nitrato o un grupo S-nitrosotiol⁴⁸⁻⁵¹. Datos obtenidos en nuestro laboratorio han demostrado que estos derivados restauran la sensibilidad a la insulina y normalizan la presión arterial en ratas eNOS^{-/-}⁵² y en un modelo murino más próximo al humano, la rata con déficit parcial del gen de la eNOS (eNOS +/-) sometida a un régimen rico en grasa³³. En estos dos estudios, la mejoría de la sensibilidad a la insulina se explica, al menos en parte, por el restablecimiento del estímulo insulínico al flujo vascular hacia el músculo esquelético. Finalmente, hemos demostrado que la utilización de la NO-aspirina en el humano insulino-resistente restaura la sensibilidad a la insulina y normaliza la presión arterial luego de tan sólo dos semanas de tratamiento⁵³.

Perspectivas

Desconocidos hasta hace poco tiempo, los efectos cardiovasculares de la insulina juegan un rol fisiológico y fisiopatológico fundamental. En el sujeto sano, la vasodilatación inducida por la insulina favorece el transporte de sustrato al tejido muscular, mientras que la activación simpática concomitante a esta vasodilatación contrarresta el posible efecto hipotensor. En los sujetos insulino-resistentes, estos efectos cardiovasculares de la insulina están fuertemente alterados, contribuyendo de manera importante tanto a la resistencia a la insulina, como al desarrollo de las afecciones cardiovasculares asociadas, responsables de la alta morbi-mortalidad observada en estos pacientes.

Asimismo, estudios efectuados recientemente en animales transgénicos con anulación aislada de cada uno

de los tres genes codificadores de cada isoforma específica de la NOS, han establecido el rol clave jugado por el NO en la regulación de la homeostasis glucídica. Surge de estas investigaciones que tanto un déficit en la producción, así como una producción exagerada de NO pueden tener consecuencias deletéreas sobre la sensibilidad a la insulina.

Estos descubrimientos abren la perspectiva para el desarrollo de nuevos tratamientos de la insulino-resistencia con dadores de NO, con agentes farmacológicos capaces de mejorar la biodisponibilidad del NO producido de manera endógena, y con medicamentos que impidan la sobreproducción de NO en el músculo esquelético. Resultados preliminares favorables con dadores de NO en modelos murinos de resistencia a la insulina y en humanos insulino-resistentes sugieren que en el futuro próximo, los dadores de NO podrían jugar un papel central en el tratamiento de la insulino-resistencia y de la diabetes en el hombre.

Bibliografía

1. Abramson DI, Schkloven N, Margolis MN, Mirsky IA. Influence of massive doses of insulin on peripheral blood flow in man. *Am J Physiol* 1939; 128: 124-32.
2. Modan M, Halkin H, Almog S, et al. Hyperinsulinemia. A link between hypertension, obesity, and glucose intolerance. *J Clin Invest* 1985; 75: 809-17.
3. Lucas CP, Estigarribia JA, Darga LL, Reaven GM. Insulin and blood pressure in obesity. *Hypertension* 1985; 7: 702-6.
4. Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD. Decreased effect of insulin to stimulate muscle blood flow in obese man. A novel mechanism for insulin resistance. *J Clin Invest* 1990; 85: 1844-52.
5. Scherrer U, Vollenweider P, Randin D, Jéquier E, Nicod P, Tappy L. Suppression of insulin induced sympathetic activation and vasodilation by dexamethasone in humans. *Circulation* 1993; 88: 388-94.
6. Lembo G, Napoli R, Capaldo B, et al. Abnormal sympathetic overactivity evoked by insulin in skeletal muscle of patients with essential hypertension. *J Clin Invest* 1992; 90: 24-9.
7. Scherrer U, Sartori C. Insulin as a vascular and sympathoexcitatory hormone. Implications for blood pressure regulation, insulin sensitivity and cardiovascular morbidity. *Circulation* 1997; 96: 4104-13.
8. Sartori C, Scherrer U. Insulin, nitric oxide and the sympathetic nervous system: at the crossroads of metabolic and cardiovascular regulation. *J Hypertens* 1999; 17: 1517-25.
9. Vollenweider P, Tappy L, Randin D, et al. Differential effects of hyperinsulinemia and carbohydrate metabolism on sympathetic nerve activity and muscle blood flow in humans. *J Clin Invest* 1993; 92: 147-54.
10. Randin D, Vollenweider P, Tappy L, Jéquier E, Nicod P, Scherrer U. Effects of adrenergic and cholinergic blockade on insulin-induced stimulation of calf blood flow in humans. *Am J Physiol* 1994; 266: 809-16.
11. Scherrer U, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Nicod P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J Clin Invest* 1994; 94: 2511-5.

12. Sartori C, Trueb L, Nicod P, Scherrer U. Effects of sympathectomy and nitric oxide synthase inhibition on vascular actions of insulin in humans. *Hypertension* 1999; 34: 586-9.
13. Mathias CJ, Da Costa DF, Fosbraey P, Christensen NJ, Bannister R. Hypotensive and sedative effects of insulin in autonomic failure. *Br Med J* 1987; 295: 161-3.
14. Scherrer U, Randin D, Tappy L, Vollenweider P, Jéquier E, Nicod P. Body fat and sympathetic nerve activity in healthy subjects. *Circulation* 1994; 89: 2634-40.
15. Vollenweider P, Randin D, Tappy L, Jéquier E, Nicod P, Scherrer U. Impaired insulin-induced sympathetic neural activation and vasodilation in skeletal muscle in obese humans. *J Clin Invest* 1994; 93: 2365-71.
16. Vollenweider L, Tappy L, Owlya R, Jéquier E, Nicod P, Scherrer U. Insulin-induced sympathetic activation and vasodilation in skeletal muscle. Effects of insulin resistance in lean subjects. *Diabetes* 1995; 44: 641-5.
17. Steinberg H, Cressman E, Wu Y, et al. Insulin mediated nitric oxide production is impaired in insulin resistance. *Diabetes* 1997; 46: 24A.
18. Zeng G, Quon MJ. Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by wortmannin. Direct measurement in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1996; 98: 894-8.
19. Desprès J-P, Lamarche B, Mauriège P, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996; 334: 952-7.
20. Shen D-C, Shieh S-M, Fuh MM-T, Wu D-A, Chen Y-DI, Reaven GM. Resistance to insulin-stimulated glucose uptake in patients with hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 580-3.
21. Allemann Y, Horber F, Colombo M, et al. Insulin sensitivity and body fat distribution in normotensive offspring of hypertensive parents. *Lancet* 1993; 341: 327-31.
22. Sloan JA, Hooper M, Izzo JLJ. Effects of circulating norepinephrine on platelets, leukocyte and RBC counts by alpha₁-adrenergic stimulation. *Am J Cardiol* 1989; 63: 1140-2.
23. Taddei S, Viridis A, Mattei P, Natali A, Ferrannini E, Salvetti A. Effect of insulin on acetylcholine-induced vasodilation in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 1995; 92: 2911-8.
24. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. *J Clin Invest* 1996; 97: 2601-10.
25. Duplain H, Burcelin R, Sartori C, et al. Insulin resistance, hyperlipidemia, and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2001; 104: 342-5.
26. Scherrer U, Sartori C. Defective nitric oxide synthesis: a link between metabolic insulin resistance, sympathetic overactivity and cardiovascular morbidity. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 315-23.
27. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979; 237: 214-23.
28. Morino K, Petersen KF, Shulman GI. Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction. *Diabetes* 2006; 55 Suppl 2: 9-15.
29. Nisoli E, Clementi E, Paolucci C, et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. *Science* 2003; 299: 896-9.
30. Le Gouill E, Binnert C, Jayet P-Y, et al. eNOS knockout mice have defective mitochondrial beta-oxidation. *Diabetes* 2007; 56: 2690-6.
31. Cook S, Hugli O, Egli M, et al. Clustering of cardiovascular risk factors mimicking the human metabolic syndrome X in eNOS null mice. *Swiss Med Wkly* 2003; 133: 360-3.
32. Ohtoshi K, Yamasaki Y, Gorogawa S, et al. Association of (-)786T-C mutation of endothelial nitric oxide synthase gene with insulin resistance. *Diabetologia* 2002; 45: 1594-601.
33. Cook S, Hugli O, Egli M, et al. Partial gene deletion of endothelial NO synthase predisposes to exaggerated high-fat diet-induced insulin resistance and arterial hypertension. *Diabetes* 2004; 53: 2067-72.
34. Shankar RR, Wu Y, Shen HQ, Zhu JS, Baron AD. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance. *Diabetes* 2000; 49: 684-7.
35. Turini P, Cook S, Sartori C, et al. Insulin resistance in mice lacking neuronal nitric oxide synthase is not related to defective insulin stimulation of substrate delivery or glucose uptake in skeletal muscle: a possible role for sympathetic overactivity? *Faseb Journal* 2004; 18: A1222.
36. Perreault M, Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nat Med* 2001; 7: 1138-43.
37. Duplain H, Sartori C, Jayet PY, et al. Peroxynitrite contributes to high fat diet-induced insulin resistance. *Faseb Journal* 2007; 21: A1197.
38. Kapur S, Bedard S, Marcotte B, Cote CH, Marette A. Expression of nitric oxide synthase in skeletal muscle: a novel role for nitric oxide as a modulator of insulin action. *Diabetes* 1997; 46: 1691-700.
39. Etgen GJ, Jr., Fryburg DA, Gibbs EM. Nitric oxide stimulates skeletal muscle glucose transport through a calcium/contraction- and phosphatidylinositol-3-kinase-independent pathway. *Diabetes* 1997; 46: 1915-9.
40. Pieper GM, Siebeneich W, Olds CL, Felix CC, Del Soldato P. Vascular protective actions of a nitric oxide aspirin analog in both in vitro and in vivo models of diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med* 2002; 3: 1143-56.
41. Oshida Y, Tachi Y, Morishita Y, et al. Nitric oxide decreases insulin resistance induced by high-fructose feeding. *Horm Metab Res* 2000; 32: 339-42.
42. Sarabi M, Lind L, Millgard J, et al. Local vasodilatation with metacholine, but not with nitroprusside, increases forearm glucose uptake. *Physiol Res* 1999; 48: 291-5.
43. Natali A, Quinones Galvan A, Pecori N, Sanna G, Toschi E, Ferrannini E. Vasodilation with sodium nitro-prusside does not improve insulin action in essential hypertension. *Hypertension* 1998; 31: 632-6.
44. Ronnema EM, Ronnema T, Utriainen T, et al. Decreased blood flow but unaltered insulin sensitivity of glucose uptake in skeletal muscle of chronic smokers. *Metabolism* 1999; 48: 239-44.
45. Meneilly GS, Battistini B, Floras JS. Lack of effect of sodium nitroprusside on insulin-mediated blood flow and glucose disposal in the elderly. *Metabolism* 2000; 49: 373-8.
46. Tappy L, Girardet K, Schwaller N, et al. Metabolic effects of an increase of sympathetic activity in healthy humans. *Int J Obes* 1995; 19: 419-22.
47. Munzel T, Kurz S, Heitzer T, Harrison DG. New insights into mechanisms underlying nitrate tolerance. *Am J Cardiol* 1996; 77: 24-30.
48. Stamler JS, Simon DI, Osborne JA, et al. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and character-

- rization of biologically active compounds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 444-8.
49. Schonafinger K. Heterocyclic NO prodrugs. *Farmaco* 1999; 54: 316-20.
 50. Bandarage UK, Chen L, Fang X, et al. Nitrosothiol esters of diclofenac: synthesis and pharmacological characterization as gastrointestinal-sparing prodrugs. *J Med Chem* 2000; 43: 4005-16.
 51. Minuz P, Degan M, Gaino S, et al. NCX4016 (NO-Aspirin) has multiple inhibitory effects in LPS-stimulated human monocytes. *Br J Pharmacol* 2001; 134: 905-11.
 52. Cook S, DSP, Hugli O, Turini P, Nicod P, Vollenweider P., Scherrer U. Nitric oxide-releasing aspirin reverses arterial hypertension and insulin resistance in eNOS deficient mice. *Forum Med Suisse* 2002; 8: 56.
 53. Jayet PY, Thalmann S, Sartori C, et al. Nitro-aspirin improves insulin sensitivity in obese insulin-resistant men. *Circulation* 2004; 110: 820-1.

Winning prizes is not the point of science; it is not the objective of most scientists. We do our work because we are enthralled and challenged by the puzzles of nature, because we can think of nothing else that we would rather do.

Ganar premios no es a lo que apunta la ciencia; no es el objetivo de la mayoría de los investigadores. Hacemos nuestro trabajo porque nos encanta y buscamos desafiar los rompecabezas de la naturaleza porque no podemos pensar en algo que nos gustaría más hacer.

J. Michael Bishop

How to Win the Nobel Prize: An unexpected Life in Science.
Cambridge MA: Harvard University Press, 2003, p 34