



Universidad de Sevilla

**Facultad de Medicina
Departamento de Medicina**

**RESPUESTA DE PANCREASTATINA E INSULINA
A LA SOBRECARGA INTRAVENOSA DE
GLUCOSA EN HIJOS NORMOTENSOS DE
PADRES HIPERTENSOS ESENCIALES.
RELACIÓN CON EL ESTADO DE RESISTENCIA A
LA INSULINA DE LOS PADRES**

**Tesis Doctoral
Eladio Ramos González-Serna
Sevilla 1997**

Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 79 número 33 del libro
correspondiente.

Sevilla,

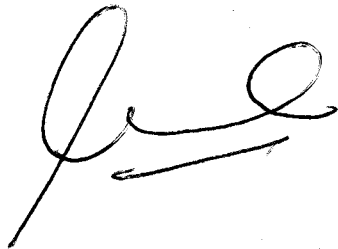
25 SET. 1997
El Jefe del Negociado de Tesie.

F.D. R. J. M.

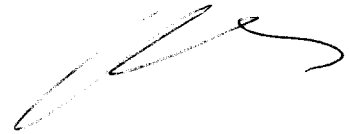
D. Ramón Pérez Cano, Catedrático de Medicina y D^a Josefina Oliván Martínez,
Profesora Titular de la Facultad de Medicina de Sevilla

CERTIFICAN: que el trabajo **"RESPUESTA DE PANCREASTATINA E INSULINA A LA SOBRECARGA INTRAVENOSA DE GLUCOSA EN HIJOS NORMOTENSOS DE PADRES HIPERTENSOS ESENCIALES. RELACIÓN CON EL ESTADO DE RESISTENCIA A LA INSULINA DE LOS PADRES"** ha sido realizado bajo su dirección por el licenciado en Medicina y Cirugía D. **ELADIO RAMOS GONZÁLEZ-SERNA**, reuniendo las condiciones para ser leída y defendida como Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

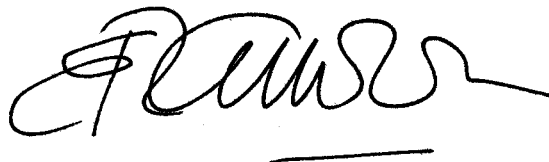
Y para que así conste y surta los efectos oportunos, expedimos la presente en Sevilla a 25 de Septiembre de 1997.



Fdo: D. Ramón Pérez Cano



Fdo: D^a Josefina Oliván Martínez



Fdo: D. Eladio Ramos González-Serna
EL DOCTORANDO

**A María José,
con todo mi amor.
A mi madre,
por todo su esfuerzo.**

AGRADECIMIENTOS

Al profesor D. Ramón Pérez Cano, catedrático de Medicina, y a D^a Josefina Oliván Martínez, profesora titular de Medicina, por su inestimable ayuda, confianza y colaboración, más allá incluso del desarrollo de este trabajo, en el que su aportación tanto científica como personal ha supuesto para mí un continuo estímulo.

Al profesor D. Raimundo Goberna Ortiz, catedrático de Bioquímica, por sus certeras observaciones y el entusiasmo puesto en este proyecto desde el principio.

A los doctores D. Víctor Sánchez-Margalet y D. Joaquín Mateo Cañas porque sin sus conocimientos no hubiera podido llevarse a cabo.

A los doctores D. José Luís Grier Borrás y D. José Contreras Gilbert por sus esfuerzos en poner a punto la técnica usada en este trabajo, allanándome un terreno que yo pisé con comodidad.

Al resto de mis compañeros de la Unidad de Hipertensión y Factores de Riesgo Cardiovascular del Hospital Virgen Macarena de Sevilla, D^a Marta Hoyos Jiménez, D. Juan Luís Pizarro Núñez, D. Antonio Rodríguez Botaro y D^a M^a Ángeles Marqués Aranda por su aprecio y compañerismo.

A D^a Isabel Gonçalvez, enfermera del Servicio de Bioquímica del Hospital Virgen Macarena de Sevilla por su excelente colaboración.

A todos ellos mi más sincera gratitud así como mi mayor afecto.

Mucho aprenderemos en los libros, pero más aprenderemos en la contemplación de la naturaleza, causa y ocasión de todos los libros.

Santiago Ramón y Cajal

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	10
1.1.1. ¿Genes o ambiente?	11
1.1.2. ¿Mono o poligenia?	16
1.1.3. Alcance de la agregación familiar de la presión arterial	24
1.1.4. Estudios de adopción y gemelos	28
1.1.5. Formas genéticas simples de hipertensión arterial	32
1.2. INSULINA E HIPERTENSIÓN ARTERIAL: RESISTENCIA A LA INSULINA.....	36
1.2.1. MÉTODOS DE VALORACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA	38
1.2.1.1. Modelos de circuito cerrado	39
1.2.1.2. Modelos de circuito abierto.....	39
1.2.1.2.1. Prueba de supresión de la insulina	40
1.2.1.2.2. Clamp de glucosa	42
1.2.1.3. Modelo de mínimos.....	44
1.2.2. RELACIONES CAUSA-EFECTO	44
1.2.2.1. La hipótesis vascular.....	44
1.2.2.2. Insulina y sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	47
1.2.2.2.1. Insulina y potasio	47
1.2.2.2.2. Insulina y sodio	49
1.2.2.3. Insulina y sistema nervioso simpático	51
1.2.2.4. Insulina y calcio	52

1.3. PANCREASTATINA.....	54
1.3.1. FORMAS MOLECULARES.....	55
1.3.2. ORIGEN DE LA PANCREASTATINA.....	56
1.3.3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	59
1.3.3.1. Secreción pancreática endocrina.....	59
1.3.3.2. Secreción pancreática y exocrina.....	60
1.3.3.3. Secreción gástrica.....	61
1.3.3.4. Secreción de hormona paratiroidea.....	61
1.3.3.5. Metabolismo del glucógeno.....	62
1.3.3.6. Otras acciones fisiológicas.....	62
1.3.4. MECANISMOS DE ACCIÓN.....	63
1.3.5. IMPLICACIONES FISIOLÓGICAS.....	65
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	68
3. SUJETOS Y MÉTODOS.....	71
3.1. Sujetos.....	72
3.2. Determinación de la presión arterial.....	72
3.3. Prueba de supresión de la insulina.....	73
3.4. Prueba de sobrecarga intravenosa de glucosa.....	74
3.5. Radioinmunoensayo de pancreastatina.....	75
3.6. Determinaciones de hormonas.....	76
3.7. Análisis bioquímicos.....	77
3.8. Análisis estadístico.....	77
4. RESULTADOS.....	78
4.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS SUJETOS.....	79
4.2. LÍPIDOS PASMÁTICOS.....	80
4.3. PRUEBA DE SOBRECARGA INTRAVENOSA DE GLUCOSA.....	81
5. DISCUSIÓN.....	92
6. CONCLUSIONES.....	98
7. BIBLIOGRAFÍA.....	101

1. INTRODUCCIÓN

1.1. - EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Es un hecho reconocido universalmente que la hipertensión arterial (HTA) representa el principal factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y renales. Con una prevalencia entre el 15 y el 20 % de la población adulta de los países desarrollados, su impacto sobre la morbimortalidad de estas patologías es de primera magnitud. A pesar de que su etiología permanece en gran parte aún desconocida, su agregación y recurrencia familiar son hechos incontrovertibles y conocidos desde hace siglos.

La primera intuición de esta agregación fue recogida en 1761 por Morgagni¹ al describir la observación de que el padre de un paciente muerto de hemorragia cerebral también había muerto de apoplejía. Desde entonces hasta nuestros días un gran número de estudios de población ha puesto de manifiesto que la agregación familiar de la presión sanguínea es un fenómeno general que aparece en todas las poblaciones y a lo largo de todo el rango de presiones, independientemente de que los individuos sean hipo, normo o hipertensos^{2,3}.

Sin embargo, la causa de esta agregación genera aún controversia⁴ debido a dos hechos fundamentales: por una parte, los miembros de una familia no sólo comparten genes, sino también todo el entorno ambiental y, en segundo lugar, la presión arterial, y la hipertensión en su caso, son rasgos fenotípicos

compleja consecuencia de variados mecanismos fisiopatológicos⁵ en los que, a diferencia de otros campos de la medicina en que los avances de la biología molecular ha permitido un mayor conocimiento de los mecanismos genéticos, la falta de marcadores moleculares obliga a que sigan siendo los niveles de presión arterial la unidad de medida, con el agravante de la gran variabilidad de las cifras tensionales tanto a lo largo del día como a lo largo de la vida de los individuos, la influencia sobre éstas de multitud de factores en gran parte imprevisibles, así como su distribución continua sobre la población, lo que hace que el umbral que separa los normo de los hipertensos sea forzosamente arbitrario y dificulta el uso de las mismas a la hora del análisis matemático de los datos.

1.1.1- ¿GENES O AMBIENTE?

A pesar de que la distribución familiar de factores ambientales - la "crianza"- ha sido aludida como explicación posible de la agregación familiar de la presión arterial, aún no se ha realizado un estudio cuidadoso que concluya inequívocamente con que los componentes ambientales de la familia sean más importantes que los genéticos. El no haberse podido identificar una serie de variables transmitidas culturalmente que ejerzan una importante influencia sobre la agregación de la presión arterial dentro de una familia puede deberse a la imposibilidad de un control experimental de la familia humana y por lo tanto a la dificultad de discriminar entre la influencia de genes o ambientes

comunes. Sólo dos diseños de estudio permiten una aproximación casi experimental al estudio de la familia humana: los estudios de adopción y los estudios de gemelos. Sin embargo, a pesar de la falta de una evidencia concluyente sobre la influencia de factores ambientales, alguno de estos factores sí ha demostrado de forma inequívoca su influencia sobre la presión arterial.

El sobrepeso y la obesidad no sólo muestran una tendencia a agregarse en familias sino que ejercen una marcada influencia sobre la presión arterial. En niños parece que son el tamaño corporal total y la tasa de crecimiento los mayores determinantes de la presión arterial, pero tras la adolescencia es el peso relativo el que se convierte en el principal factor determinante. En este sentido, es de recalcar que un importante número de trabajos⁶⁷⁸, especialmente sobre niños adoptados, ha puesto de manifiesto que el ambiente familiar tiene una marcada influencia sobre la distribución del peso relativo⁹¹⁰. Este hecho iría en apoyo de la hipótesis de que la agregación familiar de la presión arterial está influenciada por el ambiente familiar inmediato a través de la distribución de la obesidad relativa. Sin embargo, Kotchen¹¹ al estudiar esta posible relación encontró que la agregación familiar del peso relativo era insuficiente para explicar la agregación de la presión arterial. Un estudio posterior llevado a cabo en Muscatine, Iowa¹², concluyó que el 30% de la correlación de la presión arterial sistólica (PAS) entre hermanos jóvenes se debía a la agregación del peso en estas familias, sugiriendo que otros factores

además de la distribución del peso deben estar implicados en la agregación de la presión arterial. De cualquier forma, a pesar de que la agregación familiar de la obesidad parece hasta cierto punto debida a hábitos dietéticos culturalmente transmitidos, hay un gran número de estudios que ponen en evidencia la existencia de factores genéticos que también influyen en la distribución de la obesidad. En varios trabajos sobre niños adoptados^{9,13,14}, la distribución de la obesidad en éstos mostró ser función del nivel relativo de obesidad de sus padres naturales más que del de los padres adoptivos. Por tanto, una sustancial proporción de la agregación familiar de la obesidad parece deberse a factores genéticos, y esto sugiere que la influencia genética sobre la distribución de la presión arterial puede actuar a través de distintos mecanismos. Teniendo en cuenta que factores genéticos pueden determinar diferencias en las distintas tasas metabólicas^{15,16}, un mecanismo fisiológico posible sería que algunos genes pueden influir tanto en la agregación familiar de la obesidad como en la consecuente agregación de la presión arterial.

Otros factores ambientales culturalmente transmitidos como el hábito tabáquico, la práctica de ejercicio físico e incluso el perfil de personalidad, pueden influir sobre la presión arterial, sin embargo existe escasa evidencia de que sean más importantes que los factores genéticos subyacentes sobre la agregación familiar de la misma^{17,18}.

Un enfoque alternativo para identificar el papel relativo de los factores genéticos y ambientales es estudiar la distribución de la presión arterial en grupos genéticamente diferentes. Paradójicamente, este tipo de estudios ha aportado evidencias a favor de la influencia de factores no genéticos. A pesar de que estudios iniciales pusieran de manifiesto que, a diferencia de la población blanca de Europa y Estados Unidos, la HTA era extremadamente rara en las sociedades africanas¹⁹, trabajos posteriores demostraron que la prevalencia de HTA en la población negra norteamericana era del doble que en la población blanca²⁰, aportando evidencias de que eran factores ambientales la base de esta diferencia. En esta línea, diversos estudios llevados a cabo en África y en el Pacífico, han demostrado la existencia de una gran variación en la prevalencia de la HTA a lo largo del continente y además que esta variabilidad se explica en gran medida por el grado de occidentalización de las distintas poblaciones estudiadas²¹⁻²⁵, siendo mayor la prevalencia en aquellas poblaciones más aculturadas a las formas de vida occidentales. En concreto, serían el consumo de sal, la distribución de la obesidad, el nivel relativo de actividad física y el grado de estrés psicosocial los principales determinantes no sólo del grado de presión arterial media en las distintas poblaciones sino incluso del aumento de la misma con la edad^{4,5,7,8,17,21,25-28}.

Como contrapartida a este enfoque, el estudio de poblaciones genéticamente mezcladas podría aportar información acerca de la relación entre contrastes

genéticos y niveles de presión arterial, valorando la agregación de ésta según el grado de ascendencia genética²⁹⁻³⁴. A pesar de las diversas objeciones metodológicas que pueden hacerse a los trabajos realizados en esta línea, los resultados no parecen apoyar la hipótesis de que las diferencias genéticas entre individuos puedan tener una marcada influencia sobre la susceptibilidad a la HTA.

En resumen podría afirmarse que, a diferencia de la situación dentro de un mismo grupo de población donde los factores familiares pueden ser responsables de hasta el 20-40% de la variación de la presión arterial³⁵, y donde genes mendelianos identificables pueden influir hasta en el 20% de la HTA³⁶, las principales diferencias entre poblaciones distintas reflejan probablemente su distribución característica de factores ambientales y de estilo de vida, siendo la "occidentalización" con su cortejo de aumento en el consumo de sal, descenso en el nivel de actividad física, aumento de la obesidad y estrés psicosocial, el principal determinante. Por ello, una mayor comprensión de los determinantes genéticos sobre la distribución de la HTA requiere una más exhaustiva evaluación de factores genéticos que influyen en la agregación familiar dentro de una misma población.

1.1.2.- ¿MONO O POLIGENIA?

Uno de los primeros estudios sistemáticos encaminados a identificar los factores etiológicos asociados con el estado de "hipertensión" se llevó a cabo ya en los años 20 por Weitz³⁷, evaluando a parientes de pacientes con presión arterial alta y comparándolos con controles de igual edad y sexo. Se encontró que el 77% de los pacientes presentaba una historia familiar de exceso de muertes por enfermedad cardíaca o accidente cerebral, mientras que en el caso de los controles era del 30%. Se observó también que en 93 adultos, hermanos de pacientes hipertensos, la presión arterial estaba más elevada que la de los controles de edad similar. Además, Weitz puso especial énfasis en el estudio de aquellos individuos mayores dado el aumento de la presión arterial con la edad, adelantando el concepto de penetrancia dependiente de la edad de un rasgo genético. Sus resultados indicaban que aproximadamente el 50% de una pequeña serie de hermanos de edad avanzada de pacientes hipertensos tenían hipertensión o habían muerto de cardiopatía o accidente cerebral. Esta aparente relación 1:1 se interpretó como la evidencia de la acción de un sólo locus heredado de forma dominante.

Hasta mediados de siglo no vuelve a intentarse otro estudio sistemático sobre la etiología genética de la HTA. Platt³⁸, tras identificar una serie de pacientes con HTA, evaluó la distribución de hipertensión en sus padres y la comparó con la distribución de la misma en los padres de controles normotensos. Los

resultados fueron que el 59% de los padres de pacientes hipertensos lo eran también, frente al 26% de padres de los controles, concluyendo también con que la HTA era causada por la herencia de un gen dominante. Otros estudios realizados por la misma fecha llegaban a similares conclusiones³⁹.

Sin embargo, pronto aparecieron las primeras críticas a la metodología utilizada en estos trabajos, pues por una parte se trataba de pacientes altamente seleccionados que no representaban a la población general y por otra la existencia de antecedentes familiares de muerte cardiovascular se tomaba como indicio de HTA en las generaciones anteriores, aumentando con ello el sesgo y sobredimensionando la agregación familiar de la HTA.

El trabajo de Ayman⁴⁰ aplicó un planteamiento distinto para evitar este sesgo. Tras definir la HTA como presiones superiores a 140/80 mm Hg evaluó la distribución de la presión arterial entre más de 1.500 individuos pertenecientes a casi 300 familias encontrando que en familias en las que ningún progenitor era hipertenso el 3,1% de los hijos sí lo era, frente al 28,3% de los hijos de sólo un padre hipertenso y al 45,5% de aquellos con los dos padres hipertensos. Se observó además que el 65,3% de los hermanos de sujetos hipertensos también lo era frente al 33,1% de los hermanos de los controles. Estos datos eran incompatibles con la teoría de la acción de un simple gen.

En 1956, Hamilton, Pickering y colaboradores publican el clásico estudio St. Mary⁴¹⁻⁴³, que marcó un importante avance conceptual en la epidemiología genética de la HTA por sus planteamientos metodológicos. En primer lugar su diseño se realizó alrededor del concepto de que la HTA era la cola superior, cuantitativamente definida, de la distribución continua de la presión arterial, en vez de un rasgo cualitativo. Por ello, era la propia presión arterial la unidad de observación y no el rasgo fenotípico "hipertensión". Se tuvo especial cuidado en que la muestra fuera no sólo lo suficientemente amplia sino que además sus presiones arteriales se relacionaran con la distribución de la presión arterial en la población general. Se tomó en cuenta que las variables concomitantes como el sexo y la edad no sólo influían en la presión arterial sino que además no estaban aleatoriamente distribuidas dentro de las familias lo que podía inducir a potenciales sesgos de estimación. Por último, se adoptó el enfoque biométrico de la genética cuantitativa para definir, en términos estadísticos estándar, la relación entre las presiones arteriales de parientes.

El estudio abarcaba la determinación de la presión arterial de 2.031 individuos representativos de la población general, de 376 parientes de primer grado de 109 individuos cuya presión arterial diastólica (PAD) era superior a 100 mm Hg y de 373 parientes de individuos cuya PAD era inferior a 85 mm Hg. La distribución de la población se usó para definir los valores ajustados a edad y sexo, evaluándose la relación entre la presión arterial de parientes de primer grado mediante regresión lineal de dichos valores.

Se observó un nivel uniforme de agregación de la presión arterial, definido por un coeficiente de regresión de 0,22 para la PAS y 0,18 para la PAD, siendo significativos independientemente de que los individuos fueran normo o hipertensos. La correlación global entre hermanos era de 0,24 para la PAS y 0,22 para la PAD. Se concluía que lo verdaderamente heredado no era la "hipertensión" sino más bien el valor "medio" de presión arterial de un individuo. La herencia de la presión arterial se asemejaría a la de un carácter cuantitativo distribuido de forma continua, como la altura, más que a un rasgo mendeliano discreto. Los resultados del estudio de St. Mary son prácticamente idénticos a los aceptados hoy día (Tabla 1.1):

RELACIÓN	N	TAS	TAD	REF.
MADRE-HIJO	319	0,31	0,3	288
	1464	0,13	0,06	53
	1495	0,16	0,14	289
	183	0,28	0,15	55
	955	0,11	0,18	56
	535	0,14	0,16	57
PADRE-HIJO	273	0,25	0,14	288
	1464	0,16	0,08	57
	1495	0,14	0,15	289
	183	0,02	0,13	55
	955	0,18	0,23	56
	425	0,21	0,17	57
PADRES-HIJOS	538	0,24	0,16	288
	1066	0,12	0,12	53
	545	0,13	0,14	58
HERMANOS	1088	0,3	0,25	288
	1232	0,17	0,12	53
	953	0,18	0,18	289
	545	0,2	0,17	58
	1082	0,17	0,13	57

Tabla 1.1: Agregación familiar de la P.A. en adultos. Correlaciones de la P.A. en parientes de 1º grado

Posteriores trabajos, usando una metodología parecida⁴⁴⁻⁴⁷, llegaron a conclusiones similares que pueden resumirse en los siguientes puntos:

-Las correlaciones entre hermanos eran mayores que entre padres e hijos.

-Las correlaciones entre hermanos del mismo sexo eran mayores que entre hermanos de distinto sexo.

-Los valores de regresión global fueron 0,29 para la PAS y de 0,22 para la PAD, sugiriendo que factores poligénicos justificaban el 33% y el 22% de la variabilidad en la población de la PAS y PAD respectivamente.

Se interpretaba por tanto que la agregación familiar de la HTA era la consecuencia de la influencia combinada de factores poligénicos y ambientales.

En oposición a estos resultados, e insistiendo en sus planteamientos iniciales sobre la influencia de un sólo gen en la herencia de la HTA, Platt publica un trabajo en 1959⁴⁸ centrando su atención sobre la forma de la distribución de las presiones arteriales de hermanos de sujetos hipertensos. La representación gráfica de estos registros era sugestiva de un "antimodo" en los 150 mm Hg para los valores de PAS y 90 mm Hg para los de PAD, lo que interpretaba como una división de la distribución en dos componentes: grupo de hermanos

normotensos, con presiones por debajo de 150/90 mm Hg, y grupo de hermanos hipertensos con presiones por encima de estas cifras. Puesto que ambos grupos estaba formado por un número similar de individuos los datos de este estudio parecían confirmar el hecho de la segregación de dos rasgos mendelianos distintos para la presión arterial, indicando la relación 1:1 una dominancia del rasgo hipertensivo.

Un estudio posterior de Platt llegaba a discriminar una curva de distribución trimodal en hermanos de hipertensos: el modo de la izquierda correspondería, según el autor, a los normotensos homocigóticos, el modo central a los heterocigóticos con HTA fronteriza o borderline y el modo derecho a los hipertensos homocigóticos⁴⁹.

A pesar del gran número de críticas planteadas al uso de la forma de las curvas de distribución para inferir conclusiones genéticas definitivas, la polémica entre Pickering y Platt continuó durante años hasta la publicación simultánea de ambos puntos de vista^{50,51}.

A pesar de todos los intentos de identificar discontinuidades en la distribución de la presión arterial un gran número de trabajos ha aportado abrumadora evidencia sobre el hecho de que ésta es continua y unimodal. En general, las conclusiones pueden sumarse en los siguientes puntos⁵²:

- No hay una discontinuidad evidente en la distribución de la presión arterial, independientemente de la edad o el sexo de la población estudiada.

- En la mayoría de las poblaciones estudiadas hay una marcada tendencia de la presión arterial a aumentar con la edad.

- La tasa de aumento de la presión arterial con la edad tiende a seguir una distribución característica para cada sexo, siendo mayor en los varones adultos jóvenes hasta el inicio de la tercera edad en que se hace mayor en las mujeres.

- El aumento con la edad de la presión arterial en niños muestra una pendiente diferente de la de los adultos y esta diferencia es más marcada en poblaciones tradicionales donde la presión arterial media es más baja.

- Conforme aumenta el nivel medio de la presión arterial con la edad se da un aumento paralelo en la dispersión de ésta alrededor de la media específica para la edad, de forma que la varianza es dependiente de esta media.

- Las curvas continuas de frecuencia para la presión arterial se desvían de forma sutil pero importante de la curva "gaussiana" estándar, en especial en la región superior.

1.1.3. ALCANCE DE LA AGREGACIÓN FAMILIAR DE LA PRESIÓN ARTERIAL.

De cualquier forma, las críticas que los epidemiólogos hacen a toda esta polémica se basan en dos hechos: el tipo de herencia no puede inferirse de las desviaciones de una curva del estándar gaussiano y además existe un gran número de variables, como sexo, edad, obesidad, etc., cuyos efectos pueden confundir el análisis de los resultados y deben ser ajustados. Para una adecuada valoración de la etiología genética es obligatorio que se evalúe la distribución del rasgo estudiado *dentro* de cada familia. Con el reconocimiento de que la relación media entre parientes de primer grado puede definirse en términos de un coeficiente de regresión aproximado de 0,2 y que entre el 20 y el 40% de la variabilidad de la presión arterial en la población se debe a factores genéticos, la atención se centra en la distribución específica de las correlaciones entre los distintos tipos de parientes, para así determinar con mayor precisión el alcance del papel jugado por los factores ambientales, además de aclarar otros datos como la edad a la que estas correlaciones se ponen de manifiesto o la influencia que ejerce la cohabitación en el mismo hogar sobre las mismas. Tal tipo de análisis se llevó a cabo inicialmente en aquellos estudios que eran lo suficientemente amplios como para permitir un muestra adecuada: Tecumseh⁵³ y Framingham⁵⁴, a los que siguió posteriormente un gran número de estudios.

Los primeros hechos a resaltar en estos dos estudios y en otros realizados en Polonia⁵⁵, Taiwan⁵⁶ y Tokelau⁵⁷ es que, a pesar de ser algo inferior a otros estudios anteriores, la agregación familiar de la presión arterial seguía siendo estadísticamente significativa independientemente de las diferencias étnicas y de los distintos ecosistemas (Tabla 1.1). Otro dato a resaltar es la gran estabilidad en el tiempo de esta agregación en adultos. En este sentido, merece la pena recalcar que en el estudio de Framingham pasaron 25 años entre las determinaciones en los padres y las de los hijos así como el seguimiento que durante 16 años se realizó a un grupo de 609 parejas de hermanos adultos. En ambos casos las correlaciones se mantuvieron a pesar de las inevitables diferencias en dietas, hogares, estilos de vida, etc.

El hecho de que las correlaciones entre parejas de esposos sean esencialmente negativas y de la escasa influencia que el tiempo de cohabitación tiene en éstas^{53,58,59} indica que la influencia del ambiente familiar ejerce sólo un mínimo efecto sobre la variabilidad de la presión arterial una vez que se llega a la edad adulta. Por ello, parece ser que el establecimiento de la agregación familiar de la presión arterial aparece relativamente pronto en la vida, y por tanto un análisis de la presión arterial en niños aportaría una mayor información sobre el origen de la misma.

El primer estudio sobre la agregación de la presión arterial en niños se llevó a cabo en el Boston City Hospital desde 1956 a 1970⁶⁰. De un total de 721

chicos de 12 a 14 años, pertenecientes a 190 familias, las correlaciones entre hermanos, una vez ajustadas para edad y sexo, fueron de 0,34 para la PAS y de 0,32 para la PAD. Entre madre e hijo fueron de 0,16 y 0,19 respectivamente. Estas correlaciones se mantuvieron estables a lo largo de años posteriores⁶¹. Como puede observarse en la Tabla 1.2, otros estudios de parecidas características han llegado a resultados similares.

RELACIÓN	N	TAS	TAD	REF.
MADRE-HIJO	190	0,16	0,19	60
	491	0,18	-	290
	410	0,23	0,21	57
HERMANOS	190	0,34	0,32	60
	491	0,29	-	290
	616	0,14	0,16	57

Tabla 1.2: Agregación familiar de la P.A. en niños mayores de 2 años. Coeficientes de correlación.

La comparación de los datos de las Tablas 1.1 y 1.2 permite apreciar la práctica igualdad de los mismos y establecer que la acción conjunta genes-ambiente sobre la agregación familiar de la presión arterial es precoz en la vida (evidenciable ya a los 5 años de edad) y estable en el tiempo, lo cual

justifica el estudio de la misma en recién nacidos (Tabla 1.3). A pesar de que los coeficientes de correlación en estos estudios son inferiores, siguen siendo significativos tanto entre madre-hijo como entre hermanos. La correlación padre-hijo no se hace significativa hasta el primer mes de vida, lo que sugiere que factores maternos predominan durante las primeras semanas de vida y que hasta después de un mes tras el nacimiento no tienen apenas efecto los factores genéticos y ambientales.

RELACIÓN	N	TAS	TAD	REF.
MADRE-HIJO	257	0,09	0,13	291
	730	0,14	0,17	292
HERMANOS	43	0,21	0,17	61
	554	0,17	0,27	292

Tabla 1.3: Agregación familiar de la P.A. en niños menores de 2 años. Coeficientes de correlación.

Sin embargo, esta agregación, por muy precoz que aparezca en el seno de las distintas familias estudiadas, no explica completamente la influencia de los factores genéticos. Se hacen necesarios estudios que se aproximen lo más posible al diseño experimental.

1.1.4. ESTUDIOS DE ADOPCIÓN Y DE GEMELOS

Existen pocos datos acerca de la distribución de la presión arterial en familias adoptivas, a pesar de que este tipo de estudio representa un diseño extremadamente útil a la hora de eliminar algunos de los factores confundentes en las relaciones entre genes y ambientes comunes. Uno de los estudios más extensos se realizó en Montreal por Byron ^{10,62,63} con una muestra final que abarcaba a 756 hijos adoptados, 445 hijos naturales y 1.176 padres distribuidos en 606 familias. Tras ajustar la presión arterial para edad y sexo se determinó que la composición de la familia (número de padres, mezcla de hijos naturales y adoptados, etc.) no ejercía ninguna influencia sobre la distribución de la presión arterial⁶⁴, por lo que los resultados podían interpretarse en términos de la interacción entre influencias genéticas y efectos del ambiente familiar común. Tanto para la PAS como la PAD, la correlación entre padres e hijos naturales era aproximadamente dos veces mayor que entre padres e hijos adoptados y una situación similar se daba entre hermanos naturales y adoptados (Tabla 1.4). La aplicación de técnicas estadísticas complejas para hacer estimaciones de máxima probabilidad concluía con unos resultados que indicaban que factores genéticos explican el 34% de la variabilidad en la población de la PAS y el 30% de la variabilidad de la PAD⁶⁵.

CORRELACIONES	TAS	TAD
ENTRE PADRES (MADRE-PADRE)	0,15	0,18
ENTRE MADRE E HIJO NATURAL	0,27	0,26
ENTRE PADRE E HIJO NATURAL	0,24	0,21
ENTRE MADRE E HIJO ADOPTIVO	0,08	0,10
ENTRE PADRE E HIJO ADOPTIVO	0,09	0,13
ENTRE HERMANOS NATURALES	0,38	0,53
ENTRE HERMANOS ADOPTIVOS	0,16	0,29

Tabla 1.4: Agrupación de la P.A. en familias adoptivas. Coeficientes de correlación. Estudio de Montreal. (Referencias 10, 63, 65.)

En contraste con la escasez de estudios de adopción, los estudios hechos en gemelos han sido muy frecuentes desde hace más de cincuenta años. Uno de los primeros, publicado por Stocks en 1930⁶⁶, estudió la distribución de la presión arterial en 93 parejas de gemelos monocigóticos, 101 parejas de dicigóticos de distinto sexo y 83 parejas de dicigóticos del mismo sexo, además de 248 grupos de hermanos y hermanas y 286 grupos de hermanos del mismo sexo. Tras ajustar para edad, sexo y variabilidad temporal las correlaciones para la PAS se estimaron en 0,81 para gemelos monocigóticos, 0,44 para gemelos dicigóticos del mismo sexo y 0,45 para hermanos del mismo sexo. Estos resultados no difieren mucho de los obtenidos en estudios posteriores⁶⁷⁻⁶⁹ (Tabla 1.5).

POBLACIÓN	TAS	TAS	TAD	TAD	REF.
	(monocigóticos)	(dicigóticos)	(monocigóticos)	(dicigóticos)	
NIÑOS (N=279)	0,81	0,39	-	-	66
NIÑOS (N=200)	0,85	0,5	0,8	0,54	67
NIÑOS (N=187)	0,54	0,4	0,54	0,27	68
ADULTOS (N=514)	0,55	0,25	0,58	0,27	69

Tabla 1.5: Comparación de las correlaciones de la P.A. entre hermanos homo y dicigóticos

Aunque no existen dudas ya de la importancia de los factores genéticos, siguen sin explicarse los mecanismos genéticos subyacentes a la HTA. A pesar de que la controversia entre Platt y Pickering hace tiempo que acabó, permanece aún la herencia conceptual de la misma: ¿puede estar la HTA influenciada por la segregación de loci mendelianos identificables, o es la tendencia genética un rasgo completamente continuo sin posibilidad de identificar categorías de riesgo genéticamente significativas dentro de un continuum? Sólo la aplicación de nuevos modelos conceptuales y procedimientos estadísticos más potentes permitirá resolver estos aspectos críticos que rodean el origen de la agregación familiar de la HTA.

En este sentido, parece lógico pensar que los objetivos fundamentales del análisis genético deberían ser aquellos procesos fisiológicos que con probabilidad influyan en el riesgo de HTA (los "fenotipos intermedios")⁷⁰, más

que la propia presión arterial en sí. Por otra parte, este análisis genético de los fenotipos intermedios debe formularse en términos que suponen una posición de compromiso entre ambas posturas, de forma que mientras que la acción de determinados loci mendelianos específicos puede influir en la distribución de un proceso fisiológico subyacente, sus consecuencias sólo serán discernibles frente a un fondo multifactorial causado por factores poligénicos además del ambiente familiar. Además, cada locus probablemente sea específico de un proceso fisiológico definido. Por lo tanto, el riesgo genético de HTA vendría dado por un conjunto heterogéneo de loci mendelianos, cada uno actuando frente a un complejo fondo multifactorial. Sólo la caracterización de marcadores moleculares que permitan definir un grupo de "genotipos medibles" que puedan utilizarse para establecer las categorías de la distribución del riesgo genético en la población facilitarían el estudio de estas complejas interacciones⁷¹. Es importante resaltar además la posibilidad de que ciertos genes puedan ser regulados en relación con el desarrollo del individuo, de forma que su influencia sobre la presión arterial sólo sea expresada a una determinada edad, aunque los estudios realizados en este sentido hasta la fecha no parecen demostrarlo^{72,73}.

En resumen, es bastante probable que la población hipertensa sea heterogénea con respecto al riesgo genético. Mientras algunos individuos presenten este riesgo debido a la segregación de un gen principal que influya en un fenotipo intermedio específico, otros individuos deberán su riesgo a la

segregación de loci completamente diferentes que influyan en diferentes procesos fisiológicos. Por último, otro grupo de individuos tendrá una mayor tendencia genética debido al efecto acumulativo de alelos en muchos loci independientes, ninguno de los cuales tiene un efecto discernible sobre la presión arterial. Existiría por tanto un apreciable número de "genotipos de riesgo" para la HTA, todos ellos potencialmente medibles a nivel molecular.

1.1.5. FORMAS GENÉTICAS SIMPLES DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Existe un cierto número de trastornos genéticos simples y raros en los que la HTA se hereda de forma mendeliana simple. De varios de ellos se han identificado recientemente los defectos moleculares responsables.

El síndrome de Liddle es una enfermedad autosómica dominante, caracterizada por hipertensión sensible a la sal precoz y severa, hipocaliemia, reducción de la excreción de sodio urinario y marcada supresión del eje renina-angiotensina⁷⁴. Estudios recientes han demostrado que los que sufren esta condición llevan mutaciones en uno de los dos genes estrechamente asociados que codifican las subunidades β y γ de un canal del sodio sensible a la amilorida que se expresa en el túbulo contorneado distal del riñón⁷⁵⁻⁷⁸. Las subunidades β y γ mutantes tienen anomalías en el carboxilo terminal de forma que los canales formados a partir de las mismas se encuentran

constitutivamente activados⁷⁹. Probablemente la hipertensión en el síndrome de Liddle se deba a una retención renal inadecuada de sodio.

El aldosteronismo supresible con corticoides (ASC) es otro trastorno hipertensivo autosómico dominante inicialmente descrito por Sutherland⁸⁰, en el que la hipertensión, resultante de unos niveles circulantes altos de aldosterona, se mejora con dexametasona cuando se administra en dosis suficientes como para suprimir la liberación de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) pituitaria. Esta enfermedad está causada por la presencia de un gen quimérico formado por la región reguladora y los primeros exones del gen de la 11 β -hidroxilasa unidos a exones del gen de la aldosterona sintetasa. Este último es específico para la biosíntesis de aldosterona en la zona glomerulosa de las suprarrenales por su actividad 18-hidroxilasa y 18-oxidasa además de la actividad 11 β -hidroxilasa, estando normalmente regulado por la angiotensina II (AII). El gen quimérico se forma a consecuencia de un cruzamiento desigual entre estos dos genes altamente homólogos y localizados en íntima proximidad en el cromosoma 8q22^{81,82}. El punto de ruptura entre los dos genes difiere de un paciente a otro y la actividad aldosterona sintetasa del gen quimérico depende de la localización de la fusión. La presencia del gen híbrido, que es regulado como un gen de la síntesis de glucocorticoides por la ACTH pero que codifica una enzima sintetizadora de mineralocorticoides, lleva a un exceso de éstos producidos de forma anormal en la zona fasciculada de la suprarrenales.

El síndrome de exceso aparente de mineralocorticoides (EAM) fue descrito por primera vez en 1974 ⁸³, se caracteriza por hipertensión, hipocaliemia y supresión del sistema renina-angiotensina-aldosterona ⁸⁴. Se lo ha atribuido a la deficiencia congénita de 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (11 β -HDS) ⁸⁵, un complejo enzima microsomal responsable de la interconversión del cortisol hormonalmente activo a cortisona inactiva ⁸⁶. In vitro, el receptor mineralocorticoide humano (MR) se fija a la aldosterona y al cortisol con igual afinidad ⁸⁷. Sin embargo, in vivo la 11 β -HDS inactiva al cortisol y por lo tanto la aldosterona tiene un mayor acceso al MR, manteniéndose la especificidad normal del receptor ^{88,89}. En el EAM, como en la ingestión de regaliz o carbenoxolona, la actividad de la 11 β -HDS está alterada y el cortisol actúa como un potente mineralocorticoide fijándose al MR con preferencia a la aldosterona ya que sus concentraciones séricas son de 100 a 1000 veces mayores. Recientemente se ha demostrado que el EAM se debe a una mutación en el gen de la isoforma 2 de la 11 β -HDS, postulándose una herencia autosómica recesiva ⁹⁰.

Estos síndromes proporcionan la primera evidencia directa de que perturbaciones significativas en la función de genes simples pueden ser suficientes como para ocasionar hipertensión arterial. Sin embargo, a excepción de estas formas de hipertensión arterial extremadamente raras, los estudios actuales van encaminados a evaluar el papel de los fenotipos intermedios en la herencia genética de la HTA ⁹¹. En este sentido, son

importantes los trabajos realizados sobre el angiotensinógeno^{92,93}, la síntesis endotelial de óxido nítrico^{94,95}, la excreción urinaria de caliceína⁹⁶, el contratransporte Na⁺/Li⁺, el cotransporte Na⁺/K⁺⁹⁷⁻⁹⁹, el metabolismo lipídico^{100,101} y el de los carbohidratos¹⁰²⁻¹⁰⁵.

1.2 INSULINA E HIPERTENSIÓN ARTERIAL: RESISTENCIA A LA INSULINA

Se define como resistencia a la insulina (RI) a la disminución de la captación de glucosa por los tejidos periféricos para un nivel dado de insulinemia¹⁰⁶. Sin embargo, la mayoría de los individuos insulín resistentes mantiene una homeostasis glucídica normal a expensas de una secreción de insulina aumentada, siendo la hiperinsulinemia resultante la responsable directa de las alteraciones clínicas de la insulín resistencia. La resistencia tisular al efecto de la insulina sobre la homeostasis glucídica no se acompaña necesariamente de resistencia a las otras múltiples acciones de la hormona.

La relación entre la insulina y la HTA fue intuida ya en los años 20 por Gregorio Marañón cuando se refirió a la HTA como "un estado prediabético"¹⁰⁷, sin embargo, es a partir de los años 60 cuando comienzan a publicarse trabajos que relacionan la hiperinsulinemia con la HTA. En 1966 Welborn y colaboradores¹⁰⁸ describen dicha asociación y desde entonces muchos estudios clínicos y epidemiológicos la han confirmado¹⁰⁹⁻¹¹¹. Estudios prospectivos de población han puesto de manifiesto también esta relación. Así, durante los 8 años de seguimiento del San Antonio Heart Study¹¹² los niveles altos de insulinemia predijeron el riesgo de HTA con un riesgo relativo de 2,0.

Una vez puestas a punto las técnicas metabólicas modernas de cuantificación de la sensibilidad a la insulina, gran cantidad de estudios caso-control han

cuantificado ésta en pacientes hipertensos esenciales ¹¹³⁻¹¹⁷. Los resultados obtenidos hasta el momento han sido consistentes con el hecho de que pacientes hipertensos esenciales delgados y sin tratar presentan una reducción entre el 20 y el 40% en la sensibilidad total a la insulina¹¹⁸. La presión arterial está inversamente relacionada con la sensibilidad a la insulina y esta relación es mayor que la existente con los niveles de insulina plasmática cuando ambas determinaciones se realizan en los mismos sujetos. Por su parte, la presión arterial en 24 horas muestra una mejor correlación con la sensibilidad a la insulina que la toma casual en consulta¹¹⁹.

La RI no es un rasgo prominente en la hipertensión renovascular ni el hiperaldosteronismo primario, mientras que en la hipertensión secundaria a feocromocitoma o a la enfermedad de Cushing la intolerancia a la glucosa y la insensibilidad a la insulina pueden explicarse por los altos niveles circulantes de catecolaminas y cortisol respectivamente. Por el contrario, la RI de la hipertensión esencial es aparentemente primaria y no existe forma conocida de reproducirla experimentalmente en individuos normotensos.

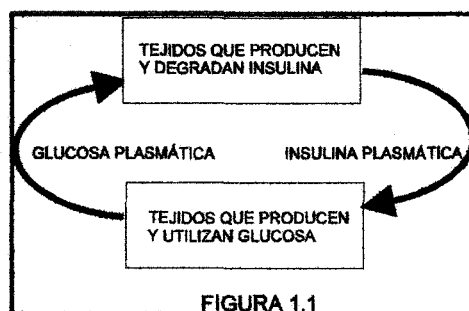
Ya que son los tejidos periféricos los resistentes a la insulina¹²⁰, mientras que el hígado -y posiblemente el corazón- no lo son, y es el metabolismo de la glucosa el alterado y no el de los lípidos, aminoácidos o el potasio ^{120,121}, la resistencia a la insulina en la HTA esencial es un proceso específico tanto de tejido como de vía metabólica. Bajo condiciones euglucémicas, la infusión

secuencial de dosis progresivamente mayores de insulina no revierte esta refractariedad tanto en tejidos del antebrazo¹²⁰ como en el organismo completo¹²². Por último la HTA empeora la resistencia a la insulina de la Diabetes Mellitus no Insulin Dependiente¹²³.

1.2.1 MÉTODOS DE VALORACIÓN DE LA RI

Existen en la actualidad varios métodos para cuantificar el grado de resistencia a la insulina, todos ellos centrados en la acción de la hormona sobre el metabolismo de la glucosa, sin valorar otros aspectos de la acción insulínica como el equilibrio hidroelectrolítico (Na^+ - K^+ -ATPasa, bomba Na^+ - H^+ , contratransporte Na^+ - Li^+) o el sistema fibrinolítico (aumento del PAI-1)

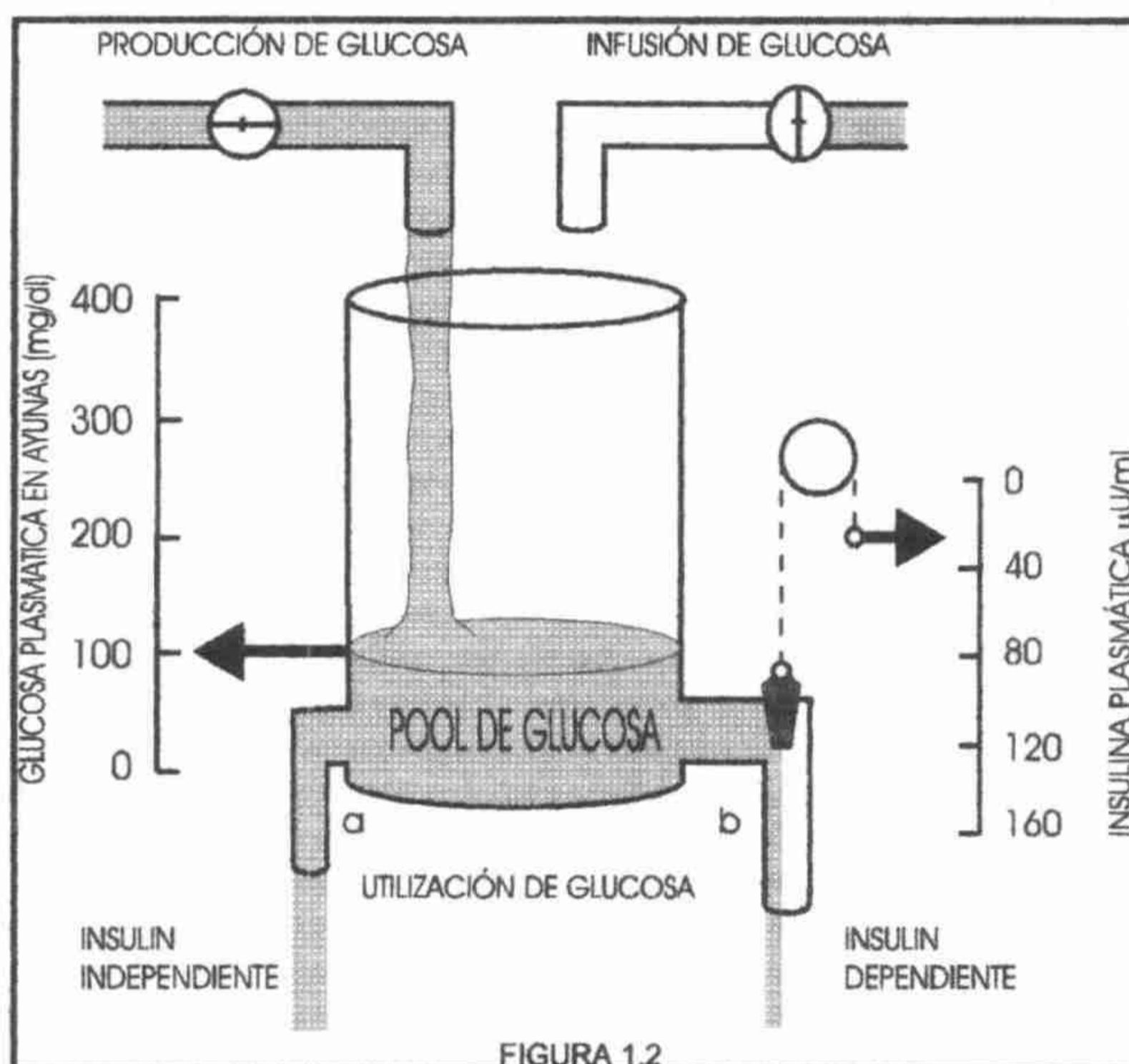
Estos métodos se pueden clasificar en dos grupos: modelos de circuito cerrado, que son aquellos en los que no se interfiere en el círculo formado por los tejidos que producen y los que degradan insulina, y aquellos tejidos que producen y los que utilizan glucosa; y modelos de circuito abierto en los que se interfiere farmacológicamente en este círculo (Figura 1.1).



1.2.1.1. Modelos de circuito cerrado. Dentro de este grupo se encuentran las pruebas de tolerancia a la glucosa (oral o intravenosa). Al ser un modelo de circuito cerrado existe una continua comunicación entre la célula β y los tejidos, por lo que cambios en la secreción de insulina serán rápidamente reflejados en la concentración de glucosa. De la misma forma, variaciones en la producción o utilización de la glucosa llevarán a una modificación de la secreción de insulina. De esa forma, sólo bajo condiciones muy limitadas se puede inferir el estado fisiológico de la célula β o de los tejidos extrapancreáticos. La existencia de hiperglucemia e hiperinsulinemia de forma concomitante durante la prueba es indicativa de insensibilidad a la insulina pero no aporta información concluyente sobre el estado de la célula β . Sin embargo, la hiperglucemia acompañada de hipoinsulinemia pone de manifiesto la existencia de alteraciones de la célula β sin aportar datos de las células tisulares.

1.2.1.2. Modelos de circuito abierto. Mediante la interrupción del circuito de retroalimentación entre la célula β y los tejidos extrapancreáticos es posible, a través de infusión exógena, controlar los niveles plasmáticos de glucosa y/o insulina y valorar la relación dosis-respuesta entre la insulina y los procesos metabólicos específicos.

Dos métodos aplican este planteamiento, basados en el modelo del “tanque de agua” como analogía física para explicar los factores que determinan el nivel de glucosa en sangre (Figura 1.2).



1.2.1.2.1. Prueba de supresión de la insulina. Diseñada por el grupo de la Universidad de Stanford¹¹⁴, se lleva a cabo mediante la infusión continua de somatostatina, glucosa e insulina. La somatostatina inhibe la secreción endógena de insulina de forma que una vez alcanzado el estado de equilibrio a los 120 minutos la glucemia resultante será función de la sensibilidad de los tejidos a la insulina exógena infundida. En individuos normales, niveles de insulinemia en estado de equilibrio (SSPI: Steady State Plasma Insulin) de aproximadamente 100 $\mu\text{U}/\text{mL}$ determinan niveles de glucemia (SSPG: Steady

State Plasma Glucose) dentro de cifras normales. Sin embargo, en insulín resistentes la SSPG estará aumentada e indicará el grado de resistencia a la insulina. (Figuras 1.3 y 1.4)

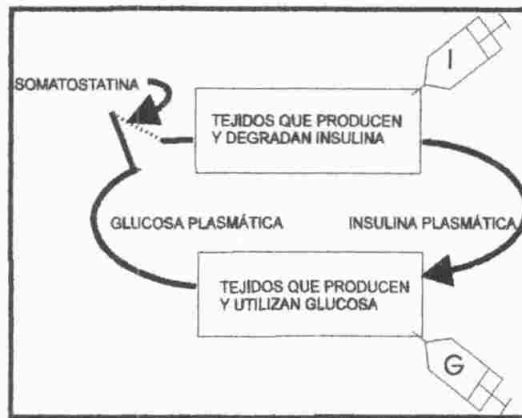


Figura 1.3: Prueba de supresión de insulina

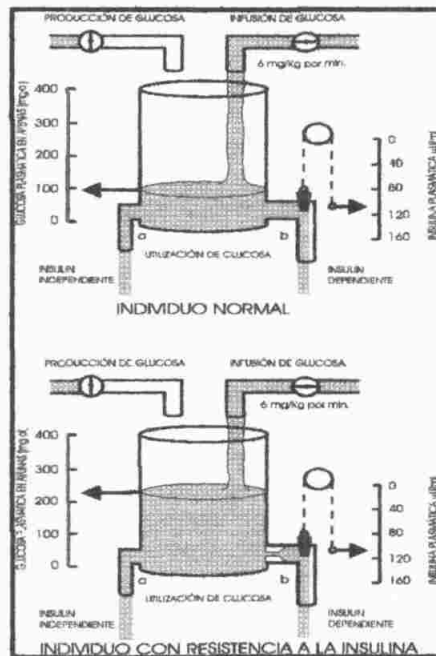


Figura 1.4: Analogía del tanque de agua para el individuo normal y el insulín resistente.

1.2.1.2.2. Clamp de glucosa. Diseñado por De Fronzo, consiste en la infusión continua de insulina a dosis adecuadas para aumentar la eliminación de glucosa y llegar a un SSPI aproximado de 100 $\mu\text{U}/\text{mL}$. La tasa de infusión de glucosa se varía para obtener una determinada concentración plasmática de la misma dependiendo del tipo de estudio que se desee (Tabla 1.6). La tasa de infusión de glucosa que consigue mantener un estado estable de glucemia refleja la acción de la insulina y se representa por el valor M (Figuras 1.5 y 1.6).

SUJETOS CON GLUCEMIAS BASALES NORMALES	
Glucemia igual a la basal	= Clamp isoglucémico euglucémico
Glucemia inferior a la basal	= Clamp subglucémico hipoglucémico
SUJETOS CON AUMENTO DE LA GLUCEMIA BASAL	
Glucemia igual a la basal	= Clamp isoglucémico hiperglucémico
Glucemia inferior a la basal	= Clamp subglucémico hiperglucémico o Clamp subglucémico euglucémico

(Tabla 1.6).

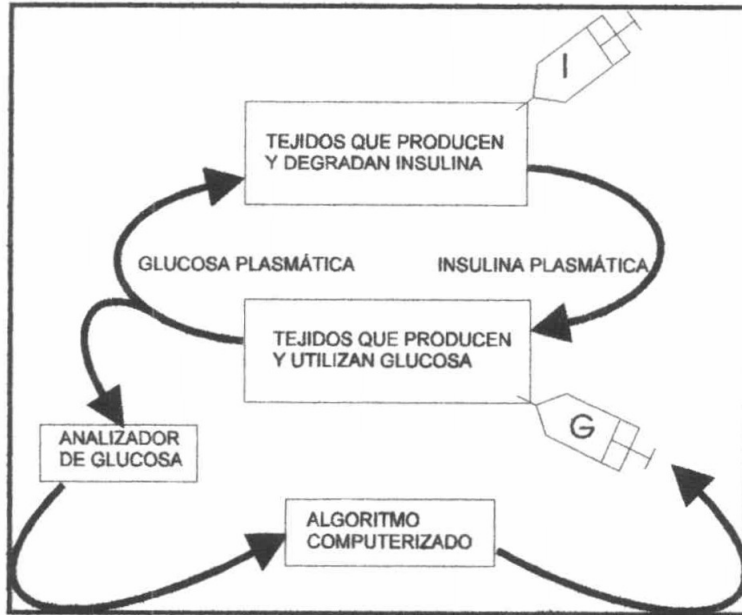


Figura 1.5: Clamp de glucosa.

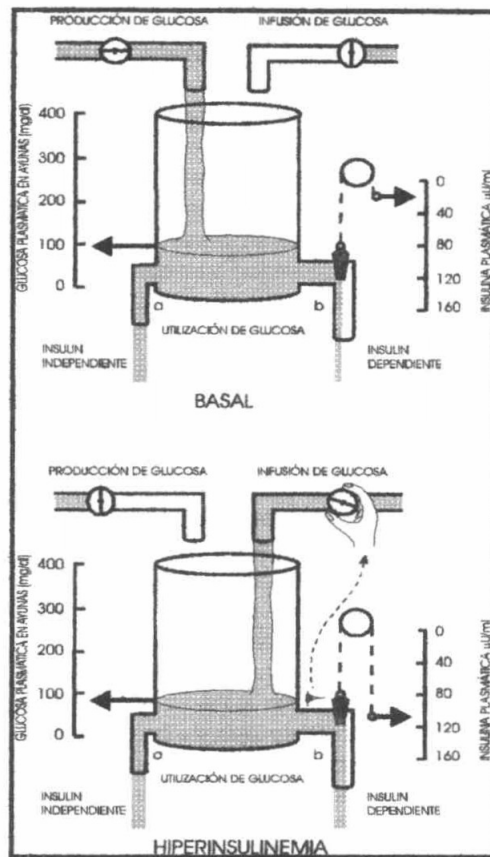


Figura 1.6: Analogía del tanque de agua para el clamp de glucosa. Basal e hiperinsulinémico

1.2.1.3. Modelo mínimo. Ha sido diseñado por Bergman y su grupo de la Universidad South California¹²⁴. Es en realidad un método de circuito cerrado pues consiste en una prueba de sobrecarga intravenosa de glucosa con muestreo frecuente, ya que se extraen muestras de sangre cada 2 minutos la primera media hora de la prueba y después cada 20 minutos hasta llegar a las 3 horas. Los resultados de glucemia e insulinemia obtenidos en cada punto son posteriormente analizados mediante un algoritmo matemático computerizado que simula la cinética de la glucosa, a través del cual se obtiene el índice de sensibilidad a la insulina (SI: Sensitivity Index, dl/min por \square U/ml de cambio en la insulina) que se expresa como la razón entre la tendencia de la insulina a mantenerse elevada (en un compartimiento distal al plasma) y la tendencia de esta actividad a disiparse.

1.2.2.RELACIONES CAUSA-EFECTO

1.2.2.1. La hipótesis vascular. El músculo esquelético en reposo representa un 40% del peso corporal y es el tejido con la mayor resistencia al gasto cardíaco. La masa muscular es el lugar en el que se genera *grosso modo* un tercio de la presión arterial en reposo^{125,126}. Por ello, en la población general la masa magra corporal presenta una correlación mayor con la presión arterial que la masa grasa o incluso que el patrón de distribución de ésta¹²⁷. Ya que el músculo esquelético es también un lugar cuantitativamente importante de

resistencia a la insulina, es lógico suponer la existencia de conexiones a este nivel.

Cambios estructurales en los vasos como los descritos en la HTA de larga evolución pueden limitar el aporte de hormonas y substratos a los tejidos, ocasionando una forma precelular de resistencia a la insulina. Un aumento de la relación pared/luz en las arteriolas puede reducir el aporte nutricional sanguíneo de los tejidos musculares, y la rarefacción capilar puede alargar la distancia entre el eje capilar y la superficie celular¹²⁸. No se ha demostrado que existan diferencias en el flujo sanguíneo total del antebrazo o la pierna entre hipertensos y normotensos¹²⁹, sin embargo es posible que en la HTA se produzcan desviaciones en la distribución relativa de éste desde el tejido muscular al no muscular (subcutáneo, graso, piel y hueso). Por ello, si el tejido muscular del sujeto hipertenso fuese más rico en fibras del tipo IIB (rápidas, glicolíticas), menos vascularizadas que las IIA (rápidas intermedias) o las tipo I (oxidativas), el flujo sanguíneo se reduciría y más sangre se dirigiría a tejidos no musculares¹³⁰. Como resultado de esta mala distribución menos células musculares recibirían la insulina y glucosa arteriales, disminuyendo las concentraciones intersticiales de hormona y substrato que bañan las células. Una consecuencia metabólica de todo ello es que la producción de energía se desplazaría hacia la degradación del glucógeno más que hacia el uso oxidativo de los ácidos grasos libres o la glucosa.

Hay sin embargo objeciones a la hipótesis estructural vascular. En primer lugar, bajo condiciones de clamp de insulina, con infusión constante de insulina exógena, ésta debería alcanzar el mismo nivel en intersticio independientemente de la distancia de difusión. Por ello, en estas condiciones un mayor tiempo de retraso entre el medio capilar y el intersticial se traduciría en una curva aplanada de insulina postprandial pero no justificaría la resistencia a la insulina. En segundo lugar, es difícil relacionar modificaciones en las vías de difusión sanguínea con grados de resistencia a la insulina dada la extremada complejidad de la trama capilar. Por otra parte, la limitación del flujo ocasionaría la disminución en el aporte de todos los substratos de parecido peso molecular, y sin embargo todos los datos indican que es la glucosa el único alterado. Por último, se ha descrito una disminución de los capilares en obesos con tensión arterial normal¹³¹ y sin embargo hay rarefacción capilar en hipertensos que no presentan resistencia a la insulina.

Un segundo aspecto de la hipótesis vascular se centra en el papel vasodilatador de la insulina. La administración sistémica de insulina ocasiona un aumento de la captación de glucosa por los tejidos y un aumento paralelo del flujo sanguíneo en miembros inferiores. Este efecto es suprimido si se infunde paralelamente somatostatina¹³²⁻¹³⁴. En sujetos diabéticos u obesos con RI no se produce esta vasodilatación, mientras que en sujetos sanos sin RI el aumento del flujo sanguíneo en piernas se correlaciona con los niveles de presión arterial y tasas de utilización de glucosa¹³⁵. Estos hechos se han

interpretado en el sentido de que es la acción de la insulina sobre los vasos la que iría reclutando tejido muscular metabólicamente apto para la captación de glucosa mediada por insulina.

Sin embargo, esta hipótesis presenta serias dificultades para poder ser aceptada. En primer lugar la vasodilatación inducida por la insulina no es un hecho comprobado de forma universal ni en el mismo grado cuando se manejan otros modelos experimentales a concentraciones fisiológicas de insulina. Tampoco existe evidencia de que el aumento del flujo sanguíneo lleve consigo un aumento del número de fibras musculares reclutadas, no se puede determinar experimentalmente la parte proporcional de este aumento del flujo que le corresponde al músculo y al tejido no muscular. En tercer lugar, este mecanismo tampoco explicaría el hecho de que sea el metabolismo de la glucosa el único alterado. Por otra parte, en pacientes hipertensos esenciales la vasodilatación forzada mediante infusión intraarterial de adenosina no indujo un aumento de la captación de oxígeno (que sería consecuencia lógica de un aumento del tejido muscular reclutado) ni de glucosa mediada por insulina¹³⁶.

1.2.2.2. Insulina y el Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

1.2.2.2.1. Insulina y potasio. La insulina es un potente regulador del metabolismo del potasio (K). La evidencia de la que se dispone actualmente apoya la existencia de un círculo fisiológico glucosa-K. En sujetos sanos, la

infusión de insulina con mantenimiento de la euglucemia ocasiona una caída dosis dependiente de las concentraciones plasmáticas de K^{137} debida fundamentalmente al desplazamiento del K extracelular al medio intracelular a través de la estimulación de la bomba $Na^+ - K^+$. Este efecto es independiente del aumento simultáneo de la captación de glucosa¹³⁸ y se acompaña de una hiperpolarización de la membrana plasmática¹³⁹.

Durante la absorción de una sobrecarga oral de glucosa los niveles plasmáticos de K sufren un descenso medio de 0,75 mEq/L con una disminución de la excreción urinaria de K a la mitad durante un periodo de 3 horas¹⁴⁰.

El efecto hipokaliémico de la insulina es sin embargo autolimitado. En primer lugar porque conforme aumenta el K intracelular lo hace también el gradiente químico transmembrana de K y en segundo lugar porque el hígado, que en un primer momento responde a la insulina aumentando su tasa de captación de K, una vez alcanzado un determinado nivel de hipokaliemia, comienza a liberar K^{137} .

Bajo condiciones de euglucemia, la hipokaliemia inducida por insulina se acompaña de un significativo aumento de la actividad de renina plasmática (ARP) y de las concentraciones séricas de angiotensina II (AII) en ausencia de variaciones en la actividad de la enzima convertora de angiotensina (ECA),

así como de un pronunciado descenso de los niveles de aldosterona sérica. Estos cambios persisten al menos una hora tras la infusión de insulina exógena y desaparecen tras la administración de K^{141} . El descenso de la aldosterona, hormona que promueve la excreción urinaria de K, potencia la hipokaliemia inducida por insulina.

Trabajos clásicos han relacionado el hiperaldosteronismo primario y secundario con alteraciones del metabolismo hidrocarbonado¹⁴². Esta relación se debe a la hipokaliemia inducida por la aldosterona, que interfiere con la respuesta secretoria de la insulina a la glucosa, alterando por tanto la tolerancia a la glucosa¹⁴³. La hipokaliemia crónica es el mecanismo fundamental responsable de la alteración de la tolerancia a la glucosa tras el uso prolongado o en altas dosis de tiazidas¹⁴⁴, corrigiéndose con suplementos de K^{145} . Por otra parte, existe abundante evidencia sobre la relación entre las concentraciones plasmáticas de K y la presión arterial tanto en pacientes hipertensos¹⁴⁶ como en la población general, en la que la razón Na/K urinario está relacionada directamente con los valores de presión sanguínea tanto en hombres como en mujeres¹⁴⁷.

1.2.2.2. Insulina y sodio. En humanos sanos, la producción de una hiperinsulinemia normoglucémica ocasiona de forma aguda una marcada reducción de la excreción urinaria de sodio (Na). Esta antinatriuresis está en relación con los niveles de insulinemia dentro del rango de la normalidad^{140,148}

y se produce en ausencia de cambios en la tasa de filtrado glomerular o del aclaramiento renal de litio, por lo que parece ser debida a un efecto directo sobre los segmentos distales del túbulo proximal.

Junto al sodio se retiene agua, que ocasiona un aumento del retorno venoso y del volumen-latido, lo que, añadido al aumento de la frecuencia cardíaca por estimulación del sistema nervioso simpático¹⁴⁹⁻¹⁵¹ ocasiona el aumento del gasto cardíaco. Si las resistencias periféricas permanecen sin modificar, el gasto cardíaco aumentado conlleva un aumento de la presión arterial que a su vez, por el mecanismo de presión-natriuresis, restablece los valores normales de presión arterial y volumen fluido. De cualquier forma, una acción antinatriurética persistente ocasiona una repetición del ciclo hasta llegar a un nuevo estado de equilibrio con hipertensión volumen-dependiente y sin aumento del sodio corporal total.

La hiperinsulinemia puede causar no sólo antinatriuresis sino también sal sensibilidad a la regulación de la presión arterial. Este efecto ha sido demostrado tanto en individuos obesos hiperinsulinémicos (en los que a la pérdida de peso acompañó una normalización en los niveles de insulinemia y en el estado de sal sensibilidad^{152,153}) como en voluntarios sanos no obesos con respuesta hiperinsulinémica a la glucosa oral o con resistencia a la insulina¹⁵⁴.

1.2.2.3. Insulina y sistema nervioso simpático. La administración sistémica de insulina tiene un efecto estimulante sobre el sistema nervioso simpático (SNS) incluso en ausencia de hipoglucemia. A dosis fisiológicas y farmacológicas, la insulina causa un aumento de la frecuencia cardíaca y la PAS así como un incremento dosis-dependiente de los niveles plasmáticos de norepinefrina^{149,150}. En individuos sanos, estudios de microneurocirugía han puesto de manifiesto un aumento sostenido en la frecuencia de descarga de las fibras adrenérgicas del nervio peroneal (actividad neuromuscular simpática: ANMS) en respuesta a la hiperinsulinemia euglucémica.

En el sujeto delgado la sobreactividad simpática sería primariamente neurogénica. En el obeso, la estimulación simpática sería secundaria a la hipersecreción insulínica inducida por la dieta y dirigida primariamente a limitar la ganancia de peso a través de la disipación de energía (aumentando la termogénesis) así como de la reducción de la eficiencia metabólica (descenso del almacenamiento de energía). El aumento de la presión arterial y la resistencia a la insulina serían productos de este ciclo de energía^{155,156}.

Gran número de líneas de evidencia apoyan esta hipótesis. En el estudio de Framingham no sólo la obesidad predijo la aparición de HTA, sino que la HTA anticipó el aumento del peso¹⁵⁷. Los estudios de Julius y colaboradores sobre la población de Tecumseh^{158,159} han demostrado que 1) la distribución de índice cardíaco en la población es bimodal; 2) signos de activación simpática

(aumento de la frecuencia cardíaca y del gasto cardíaco) son los más precoces precursores de la HTA en el adulto y pueden ser rastreados hasta la edad de 5 años, en que ni el sobrepeso ni el aumento de la presión arterial están aún presentes; 3) la HTA hiperquinética está asociada con hiperinsulinemia.

Se ha demostrado un aumento de la ANMS en jóvenes con HTA borderline¹⁶⁰, en pacientes con HTA ligera y en pacientes con HTA esencial acelerada¹⁶⁰⁻¹⁶². Además, en sujetos jóvenes con HTA ligera estable, el aumento de la ANMS se acompaña de un aumento del gasto cardíaco y de las resistencias vasculares en miembros inferiores¹⁶³, mientras que en sujetos hipertensos con resistencia a la insulina se ha demostrado un aumento de la liberación de norepinefrina en antebrazo¹⁶⁴.

1.2.2.4. Insulina y calcio. Aumentos en los niveles de calcio libre intracitosólico ($[Ca^{++}]_i$) han sido demostrados en sujetos con estados de RI (DMNID, obesidad o HTA). Ello ha llevado a algunos autores a plantear la teoría de que es un trastorno en la homeostasis intracelular de calcio el predecesor común de la resistencia a la insulina y la HTA¹⁶⁵. Se ha pensado que el $[Ca^{++}]_i$ aumenta primariamente como resultado de una insuficiente extracción de calcio desde el citosol mediante el intercambiador $Ca^{++}-H^+$, que actúa tanto en la membrana plasmática (eflujo de calcio al exterior de la célula) como en la membrana endoplásmica o sarcoplásmica (recaptación de calcio).

El intercambiador $\text{Ca}^{++}\text{-H}^+$ está acoplado al antitransporte $\text{Na}^+\text{-H}^+$ que extrae protones intracelulares, por lo que una disminución en la actividad del primero conlleva a un aumento de la del segundo y su consecuencia funcional sería la vasoconstricción (o una sensibilidad aumentada a estímulos presores) y la hipertrofia de las células musculares lisas vasculares (por la alcalinización celular), conducentes todas ellas a un aumento de las resistencias vasculares periféricas.

En individuos insulín resistentes la hiperinsulinemia podría teóricamente desencadenar estas alteraciones bien actuando directamente sobre el intercambiador $\text{Ca}^{++}\text{-H}^+$, el antitransporte $\text{Na}^+\text{-H}^+$ o bien estimulando éste último a través de un aumento en la producción de protones. Sin embargo, los mecanismos celulares en los que tanto el Ca^{++} , H^+ y la insulina están involucrados son tan complejos que es difícil establecer una única alteración que explique simultáneamente un aumento del $[\text{Ca}^{++}]_i$ y de la actividad del $\text{Na}^+\text{-H}^+$ junto a un aumento del pH intracelular. Por otra parte, el calcio es un mensajero intracelular clave que en sinergia con el AMPc actúa en gran cantidad de acciones de la insulina¹⁶⁶. Por ello, no es raro pensar que uno o más defectos a lo largo de la vía de transducción que alteraran la acción insulínica pudieran manifestarse con niveles de $[\text{Ca}^{++}]_i$ por encima o por debajo de los considerados óptimos para las funciones celulares¹⁶⁷.

1.3. PANCREASTATINA.

Pancreastatina (PST) es un péptido de 49 aminoácidos con un resto glicinamida en el extremo carboxi-terminal que fue aislado, purificado y caracterizado por primera vez a partir de páncreas porcino por Tatemoto et al¹⁶⁸ en 1986. Su papel como hormona reguladora enteropancreática ha sido bien establecido dados los múltiples efectos biológicos en numerosos tejidos; efectos que pueden ser asociados con el extremo carboxi-terminal de su molécula¹⁶⁹. Aunque los mecanismos moleculares de la acción de la PST en la mayoría de efectos hasta ahora descritos permanecen sin aclarar, estamos ahora más cerca de comprender el posible papel de este péptido.

Se ha establecido a partir de múltiples líneas de evidencia que la PST se forma a partir de la disrupción proteolítica de su precursor, la cromogranina A (CGA)^{170,171}, una glicoproteína presente en células endocrinas y neuronales. La secuencia de aminoácidos del 240 al 288 en la CGA porcina se corresponde con la de la PST rodeada por las señales típicas de procesado proteolítico¹⁷²⁻

175

La acción general inhibidora de la PST sobre la secreción endocrina y exocrina induce a asumir que la PST debe tener un papel en la sutil regulación de la secreción a nivel paracrino, autocrino y endocrino. Sin embargo, la relación entre la PST y el tejido cromafín, el efecto contrarregulador de la PST sobre la

insulina¹⁷⁶ así como el efecto inhibitor sobre la secreción de insulina y la del páncreas exocrino, han sugerido la hipótesis de que la PST pudiera tener un papel en la fisiología del estrés¹⁷⁷.

De todas formas, el papel fisiológico de la PST tiene aún que ser clarificado.

1.3.1. FORMAS MOLECULARES

La PST fue aislada por primera vez a partir de páncreas porcino como un péptido de 49 aminoácidos (**Figura 1.7**)¹⁶⁸. La PST humana se ha deducido como un péptido de 52 residuos aminoácidos que se corresponde con la cadena 250-301 de la CGA a partir de la estructura genética de la CGA que es homóloga a la PST porcina¹⁷⁴. La PST bovina es un péptido de 47 residuos que ha sido aislado en páncreas e hipófisis¹⁷⁸ y que ha resultado también ser idéntica al cDNA de la CGA. El cDNA de la CGA de rata ha mostrado también una secuencia similar a PST, homóloga a PST porcina¹⁷⁹⁻¹⁸². La homología de la secuencia peptídica de la PST humana con la de otras especies va del 75% con la porcina al 55% con la de rata.

A partir de tumores humanos se han aislado diferentes formas moleculares de PST, que comprenden cadenas de 29 (CGA 273-301), 48 (CGA 254-301), 92 (CGA 210-301) y 186 (CGA 116-301) residuos respectivamente¹⁸³⁻¹⁸⁶. Se ha informado de la existencia de distintas formas fosforiladas de PST

dependiendo de la localización del péptido (páncreas o íleon bovino)¹⁸⁷. Sin embargo, las formas circulantes de PST son más importantes fisiológicamente. Por ello, la PST-52 humana y una molécula mayor, de 15-21 kDa han mostrado ser las principales formas moleculares en el plasma humano¹⁸⁸. Es interesante que ambas parecen tener actividad biológica, aunque la forma molecular mayor que se corresponde con PST-186 tiene aún que ser confirmada.

Gly-Trp-Pro-Gln-Ala-Pro-Ala-Met-Asp-Gly-Ala-Gly-Lys-Thr-Gly-Ala-Glu-Glu-Ala-Gln-Pro-Pro-Glu-Gly-Lys-Gly-Ala-Arg-Glu-His-Ser-Arg-Gln-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Thr-Ala-Gly-Ala-Pro-Gln-Gly-Leu-Phe-Arg-Gly-NH₂

Figura 1.7: Estructura de la PST

1.3.2. ORIGEN DE LA PANCREASTATINA

La CGA, el precursor de la PST así como de otros péptidos, está ampliamente distribuída entre las células del sistema neuroendocrino¹⁸⁹ y es la principal proteína soluble de las vesículas de almacenamiento de las catecolaminas¹⁹⁰. La expresión específica de células neuroendocrinas parece estar mediada por una secuencia específica de activación del gen de la CGA en respuesta a AMP_c¹⁹¹.

La CGA no procesada parece ser el principal producto de almacenamiento en las vesículas secretoras de la médula adrenal, el hipotálamo, y la hipófisis

anterior¹⁹², aunque está generalmente aceptado que los productos de degradación de las cromograninas existen en células cromafines¹⁸⁹, probablemente degradadas por proteasas calciodependientes¹⁹³. La secuencia primaria de aminoácidos de la CGA contiene conservados muchos residuos básicos apareados^{194,195} que constituyen potenciales lugares de ruptura.

El procesado de la CGA es tejido-específico¹⁹⁶, es por lo tanto mas extensivo en células endocrinas de intestino y páncreas (especialmente en células endocrinas del antro gástrico e islotes pancreáticos), donde la PST es uno de los principales productos de conversión¹⁹⁷ que están también presentes en la secreción¹⁹⁸.

En los islotes, la PST parece localizarse en las células β que contienen insulina, células δ de somatostatina¹⁹⁹ y células α que contienen glucagón^{200,201}. En el procesado post-transduccional de la CGA en los islotes pancreáticos está involucrada la proteasa PC2 relacionada con la subtilisina²⁰². Por otra parte, existe un procesado postsecretorio de la CGA^{203,204}. Este procesado puede deberse a enzimas proteolíticos localizados en los gránulos secretorios en forma inactiva y liberados junto con las catecolaminas y las cromograninas tras la estimulación. Además, pueden localizarse exoproteasas activas en la cara extracelular de la membrana plasmática tal como previamente se había propuesto²⁰⁵. Además, se ha demostrado la fragmentación de la CGA bovina por calicreína plasmática²⁰⁶.

Debido a que la mayor parte de la CGA circulante se origina en el tejido cromafín, ésta puede ser la principal fuente indirecta para la producción de la PST circulante. En relación a la secreción de PST completamente procesada, las principales fuentes parecen ser el páncreas endocrino y las células endocrinas del antro gástrico.

Se ha demostrado un aumento del 50% de los niveles de inmunorreactividad similar a la PST (PST-LI) en plasma porcino (de 100 pM a 150 pM) en respuesta a la comida²⁰⁷. En páncreas porcino perfundido, se libera PST-LI en paralelo a la insulina en respuesta a estímulos insulínotropos²⁰⁸. En antro porcino aislado y perfundido la PST 1-49 es la principal forma segregada, aunque formas de mayor peso molecular también son segregadas tras la estimulación eléctrica de nervios vagales¹⁹⁸. En el estómago no antral tras estimulación vagal predominan en la secreción formas moleculares mayores¹⁹⁸. En humanos, la PST-LI aumenta en respuesta a la infusión intrayeyunal de una comida líquida²⁰⁹. Se ha informado también de la secreción de PST-LI por la línea celular humana productora de somatostatina QGP-1N^{210,211}, regulada por acetilcolina a través de una proteína G no sensible a la toxina pertussis²¹²⁻²¹⁴.

Se han encontrado niveles elevados de PST-LI paralelamente a la secreción de catecolaminas en respuesta a la sobrecarga de glucosa en diabéticos no insulín dependientes²¹⁵ y en hipertensos esenciales no obesos^{177,216}.

El riñón y el hígado tienen un papel importante en la eliminación de la PST, ya que hay niveles circulantes altos de PST-LI en pacientes con insuficiencia renal crónica y cirrosis hepática²¹⁷. Además, se ha informado de la degradación de PST por extractos de riñón humano²¹⁸ y de la presencia de PST-LI en orina²¹⁹.

1.3.3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

1.3.3.1. Secreción pancreática endocrina. La PST fue descrita inicialmente como un inhibidor de la secreción de insulina inducida por glucosa en el páncreas de rata aislado¹⁶⁸. Este efecto es ejercido principalmente en la primera fase de secreción de la insulina²²⁰. Se ha demostrado también un efecto inhibitorio de la primera fase de la secreción insulínica en el páncreas de rata aislado y perfundido, aunque la PST aumentó el efecto de preactivación ("priming") de la glucosa tras un segundo pulso de glucosa²²¹. Por otra parte, la PST puede también estimular la secreción de insulina a partir de células de islotes cultivadas²²² así como aumentar el Ca^{++} citosólico en células secretoras de insulina RINm5F²²³.

La PST puede inhibir muchos estímulos insulínotropos: péptidos (péptido inhibidor gástrico, péptido vasointestinal y colecistoquinina [CCK-8])²²⁴, arginina, isobutil metilxantina^{225,226}, carbacol²²⁷ y glucagón²²⁸. El efecto inhibitorio de la PST sobre la secreción de insulina se ha confirmado en

estudios in vivo en ratas^{226, 229,230}. Sin embargo, en perros los estudios in vivo han resultado controvertidos: la PST no tuvo efecto sobre la liberación de insulina inducida por glucosa²³¹, e incluso aumentó ligeramente la secreción de insulina estimulada por CCK-8²³². En el páncreas de cerdo aislado y perfundido no se ha demostrado ningún efecto de la PST sobre la secreción endocrina²³³.

La secreción de glucagón parece estar estimulada por la PST tanto in vitro²¹⁸ como in vivo^{227,228,234}.

1.3.3.2. Secreción pancreática exocrina. La PST presenta un efecto inhibitorio sobre el páncreas exocrino. Este efecto ha sido investigado en ratas in vivo tras estimulación fisiológica²³⁵, estimulación con CCK-8^{236,237} y estimulación vagal central²³⁸. In vitro, la PST suprime también la secreción enzimática estimulada por CCK-8.²³⁹, aunque se ha informado de resultados contrarios usando un modelo experimental distinto²⁴⁰.

Al igual que la actividad biológica sobre la secreción pancreática endocrina, la estructura amida del extremo carboxiterminal de su molécula es necesaria para el efecto inhibitorio de la PST sobre la secreción exocrina pancreática²³⁴. Este efecto inhibitorio sobre la secreción de enzimas pancreáticos parece estar mediado a través de la modulación presináptica de la liberación de

acetilcolina²⁴¹. Por ello, se ha sugerido que la PST es un mediador del eje islote-acinar²⁴².

1.3.3.3. Secreción gástrica. Se ha informado de distintos efectos de la PST sobre la secreción gástrica, dependiendo del modelo experimental. In vitro, la PST inhibe la secreción ácida gástrica en células parietales aisladas de conejo²⁴³. Sin embargo, in vivo la PST parece aumentar la secreción ácida gástrica en perros conscientes cuando son estimulados con una comida con paptona, fenilalanina o glucosa²⁴⁴.

1.3.3.4. Secreción de hormona paratiroidea. La PST es también un regulador negativo de la liberación de parathormona. Por ello, la PST inhibe la secreción de hormona paratiroidea (PTH) provocada por estímulos fisiológicos (baja concentración de calcio) y no fisiológicos (forbol) tanto en células paratiroideas porcinas²⁴⁵ como bovinas²⁴⁶. La secreción de PTH puede también ser aumentada tras la incubación de células paratiroideas con anticuerpos antiPST²⁴⁷. La PST inhibe no sólo la secreción, sino también la transcripción de los genes de la hormona paratiroidea y la CGA, y disminuye la estabilidad de los ARNm en células paratiroideas cultivadas²⁴⁸. Sin embargo, el mecanismo específico por el que la PST efectúa cambios en la transcripción no es conocido.

1.3.3.5. Metabolismo del glucógeno. Se ha demostrado que la PST tiene un efecto glucogenolítico en el hígado de rata. La liberación de glucosa a partir del glucógeno hepático aumentó en ratas in vivo, ocasionando un efecto hiperglucémico^{249,250}. Este efecto se ha confirmado in vitro en hepatocitos de rata aislados^{251,252}, demostrando ser dependiente de la presencia de calcio en el medio de incubación. Es más, la PST inhibe in vitro la síntesis de glucógeno estimulada por insulina¹⁷⁶. Por otra parte, la tasa de glicolisis en hepatocitos estimulados con insulina no se inhibió con PST. Estos datos sugieren que la PST pudiera tener un efecto directo sobre el hígado como péptido contrarregulador de la acción insulínica.

El efecto glucogenolítico de la PST es comparable al ejercido por el glucagón, aunque este último ocasiona una hiperglucemia más intensa. La administración de PST (300 pM/Kg) además de glucagón no aumenta la glucogenolisis hepática, que es casi máxima, pero inhibe la liberación de insulina estimulada por glucagón y de esa forma aumenta el efecto hiperglucémico del glucagón²²⁶.

1.3.3.6. Otras acciones biológicas. La PST ha demostrado aumentar la retención memorística tras su administración periférica en ratones²⁵³.

In vivo desciende los niveles de catecolaminas en ratas sometidas a estrés quirúrgico²⁵⁴ sugiriendo un posible papel modulador de la secreción cromafin.

La PST no tiene efecto sobre la hipertrofia pancreática inducida en la rata por camostato que es mediada vía la liberación de CCK endógena²⁵⁵.

1.3.4. MECANISMOS DE ACCIÓN

A pesar de haber demostrado tener gran cantidad de efectos biológicos sobre los distintos tejidos, poco se sabe acerca de los mecanismos exactos de acción de la PST.

Se han identificado en membranas de hígado de rata receptores de alta afinidad específicos de PST²⁵⁶. Este estudio sugería que estos receptores son glicoproteínas monoméricas con un peso molecular aparente de 35.000 y que funcionan acoplados a proteínas fijadora de GPT, insensible a la toxina pertussis, determinado indirectamente por la inhibición de la fijación de PST a las membranas por nucleótidos de guanina así como la actividad GTPasa estimulada por la PST²⁵⁴. El análisis de la fijación bajo condiciones de equilibrio indicaba la existencia de lugares de fijación con una B_{max} de 15 fmol/mg de proteína y una K_d de 0,2 nM. El conocimiento de la naturaleza glicoproteica del receptor de PST en membranas hepáticas puede ser útil para su purificación en trabajos futuros. Hasta la fecha no se han encontrado receptores específicos a PST en otros tejidos. Su relevancia fisiológica y los mecanismos moleculares de otras acciones biológicas queda por tanto por dilucidar. Sin embargo hay evidencia indirecta de la implicación de una

proteína fijadora de GTP en los efectos inhibidores de la PST en células de la línea RINm5F de insulinoma de rata, pues es abolida tras un pretratamiento de las células con toxina pertussis²²⁵. El efecto inhibidor de la PST sobre células parietales estimuladas con histamina también es bloqueado por toxina pertussis²⁵⁷, aunque el efecto inhibidor sobre la estimulación con carbacol no fue revertido, indicando que la PST puede interferir diferentes vías de transducción de señales. Queda por aclarar si la PST interactúa directamente con una proteína G o si esta interacción es mediada por un receptor específico en la membrana plasmática.

Se ha estudiado la transducción de señales del receptor de PST en el hepatocito. El efecto glicogenolítico de la PST es dependiente del calcio pero no del AMPc²⁴⁹. Además se ha demostrado que la PST aumenta el calcio intracelular a través de mecanismos sensibles e insensibles a la toxina pertussis²⁵⁰. La movilización del calcio intracelular es dependiente de la producción de inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) a través de mecanismos insensibles a la toxina pertussis, aunque la estimulación del influjo de calcio lleva involucrado un mecanismo sensible a pertussis. De hecho, la PST aumenta la producción de IP₃ y diacilglicerol (DAG) en membranas de hígado²⁵⁸ a través de la activación de la fosfolipasa C (PLC). La producción de DAG es responsable de la activación de la proteínquinasa C (PKC) por la PST²⁵⁹ como era de esperar²⁶⁰. La producción de IP₃ y de DAG²⁶¹ son los dos miembros sinérgicos de la vía de señal del fosfatidil inositol difosfato en el

hepatocito²⁶², puesto que algunas dianas de la fosforilación dependiente de Ca^{++} -calmodulina también lo son de la PKC (por ejemplo la glucógeno sintetasa).

La PST también aumenta la producción de GMPc a través de una proteína G sensible a toxina pertussis²⁵⁵. El papel fisiológico del GMPc en el metabolismo hepático no se conoce. Sin embargo hay evidencia experimental de que la producción de GMPc media la inhibición de la actividad de la PLC estimulada por la PST²⁵⁵. Por lo tanto, el GMPc podría actuar como mecanismo de retroalimentación negativa o de regulación a la baja en la traducción de señales del receptor de PST.

1.3.5. IMPLICACIONES FISIOLÓGICAS

A la luz de las acciones de la PST que han sido caracterizadas, este péptido parece comportarse como un regulador negativo autocrino y/o paracrino de la secreción endocrina y exocrina. Por lo tanto, la PST producida y liberada por los islotes pancreáticos y las células endocrinas del antro gástrico ejerce su efecto en una glándula cercana: células endocrinas de los islotes, páncreas exocrino y mucosa gástrica. De hecho la PST podría ser uno de los mediadores del eje islote-acinar²⁴⁰.

Por otra parte, hay dos ejemplos de la regulación de la secreción glandular como agente endocrino: la glándula paratiroides y la médula adrenal. En ambos casos, la CGA más que la PST parece ser el principal producto de secreción y por lo tanto este péptido podría ejercer su acción inhibitoria a esos niveles a través de un mecanismo de retroalimentación negativa de asa larga sólo tras la degradación periférica de la CGA para dar PST.

El efecto metabólico de la PST sobre el hepatocito es el mejor ejemplo de su papel como péptido endocrino: la PST liberada por los islotes pancreáticos o bien la producida tras el procesado postsecretorio de la CGA procedente de las células cromafines actúa en un tejido diana (el hígado) lejos del lugar de producción. Este efecto metabólico cumple todos los criterios de un agente endocrino, es decir, se lleva a cabo a bajas concentraciones que son los niveles circulantes in vivo, es dosis dependiente y mediado por un receptor específico acoplado a un sistema efector, la activación de la PLC.

El efecto inhibitor general de la PST sobre la secreción endocrina y exocrina, junto a su posible efecto contrarregulador de la insulina en el metabolismo de la glucosa, apunta a un papel fisiológico en respuesta al estrés. No hay trabajos que demuestren un aumento de la secreción de PST en hipoglucemias u otra situación estresante. Sin embargo se ha demostrado correlación entre la PST y CGA en pacientes con neoplasias neuroendocrinas^{263,273} y se sabe que la liberación de CGA aumenta

paralelamente a la secreción de catecolaminas en situación de estrés^{264,265}. Además, los niveles de PST parecen correlacionarse con los de norepinefrina en hipertensos esenciales²⁶⁶. Por tanto se podría esperar que los niveles de PST siguieran al aumento de los de catecolaminas durante el estrés, aunque esta hipótesis está aún por demostrar. En este contexto se podría especular que la PST podría ayudar a las catecolaminas en su acción sobre el metabolismo de la glucosa al aportar glucosa a los músculos y el cerebro. Además, si este efecto se confirmara, la PST podría tener un papel no sólo en la fisiología del metabolismo de la glucosa, sino también en condiciones fisiopatológicas como la diabetes mellitus y otros estados de insulín resistencia como la hipertensión, tal como ya se ha propuesto como hipótesis^{177,214,215,264}.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

La existencia de alteraciones del metabolismo de la glucosa en pacientes hipertensos es un hecho ampliamente demostrado¹¹⁸.

El papel de la PST como agente contrarregulador de la acción de la insulina así como los niveles aumentados que presenta en pacientes hipertensos²⁶⁷ sugieren que pueda tener parte en la fisiopatología del síndrome hipertensivo asociado a alteraciones metabólicas.

Se ha demostrado un aumento de la actividad adrenérgica en pacientes con hipertensión arterial (HTA) esencial^{268,269} y, además, recientemente se ha puesto de manifiesto que la inmunorreactividad plasmática a la PST se correlaciona con la NE plasmática en la HTA²⁷⁰. De hecho, la resistencia a la insulina y el sistema simpatoadrenal se encuentran involucrados en las alteraciones metabólicas asociadas con la HTA¹⁵⁶.

En un estudio reciente se ha demostrado que en un grupo de hipertensos no obesos los niveles plasmáticos de PST eran más altos que los de un grupo control y se correlacionaban con los niveles de NE^{268,269}, presentaban distintos grados de insulín resistencia y por tanto diferentes alteraciones de otros factores de riesgo para la enfermedad coronaria, como aumento del LDL-colesterol y los triglicéridos y disminución del HDL-colesterol.

La existencia de una agregación familiar de la HTA es un hecho probado, si bien los mecanismos genéticos a través de los cuales se puede transmitir no han sido dilucidados. Dado el posible papel de la PST en la fisiopatología de la HTA y de las alteraciones metabólicas asociadas a ésta y teniendo en cuenta que se han demostrado alteraciones en el metabolismo de la glucosa en hijos normotensos de padres hipertensos esenciales²⁷¹, la posibilidad de que mecanismos en los que la PST se encuentra involucrada y que desembocan en la elevación crónica de la presión arterial estén poniéndose de manifiesto años antes de que aparezca clínicamente la HTA es un hecho a tener en cuenta. Por ello se plantea el presente estudio con los siguientes objetivos:

1. -Valorar la respuesta a una sobrecarga de glucosa en hijos sanos de hipertensos esenciales.
2. -Establecer si existe relación entre dicha respuesta y el estado de resistencia a la insulina de los padres.
3. -Establecer el posible papel de la pancreastatina en dicha respuesta.

3. SUJETOS Y MÉTODO

3.1. Sujetos

Se reclutaron 13 pacientes de la Unidad de Hipertensión del Hospital Virgen Macarena de Sevilla, diagnosticados de hipertensión esencial ligera-moderada (tensión arterial diastólica entre 95-105 mmHg y sistólica <180 mmHg), de edades comprendidas entre los 41 y los 60 años, no obesos (todos presentaron un índice de masa corporal inferior al 27 Kg/m^2 y un índice cintura:cadera $<0,95$), no diabéticos ni con otra enfermedad grave. Tras un mínimo de 10 días sin tratamiento antihipertensivo se los citó a las 9 de la mañana para determinar su estado de insulín resistencia mediante una prueba de supresión de la insulina.

Un prueba de sobrecarga intravenosa de glucosa se realizó a 27 sujetos sanos y normotensos, hijos de los pacientes anteriores.

3.2. Determinación de la presión arterial.

La presión arterial fue determinada en posición de sedestación tras cinco minutos de reposo. La desaparición del V ruido de Korotkoff se tomó como la presión arterial diastólica.

3.3. Prueba de supresión de la insulina.

Después de una noche en ayunas, se insertaron catéteres intravenosos (ABBOCATH-T 18-G, Abbot Ireland Ltd., Sligo, Rep. de Irlanda) en cada brazo. Se extrajo sangre de uno de los brazos para efectuar las determinaciones de glucosa e insulina en plasma, mientras que el brazo contralateral se utilizaba para la administración de los productos experimentales. Se administró Somatostatina (SOMIATÓN® Laboratorio Serono, S.A.) a razón de 350 mg/h en una solución de suero fisiológico por medio de una bomba infusora (IVAC-770) para suprimir la secreción de insulina endógena. Al mismo tiempo, se infundieron insulina y glucosa (Humulina Regular Lilly; Lilly and Co. Indianapolis. U.S.A., en suero glucosado al 30%) a las velocidades de 25 mU/m²/min y 6 mg/Kg/min respectivamente mediante bomba infusora (CRITICON RATEMINDER IV). Se extrajo sangre cada media hora hasta los 120 min y seguidamente cada 10 min hasta el transcurso de 180 min. Los valores obtenidos entre los 120 y 180 min fueron promediados y se consideró que representaban las concentraciones de glucosa e insulina en plasma en estado de equilibrio (SSPG y SSPI, respectivamente) alcanzadas durante la infusión.

3.4. Prueba de sobrecarga intravenosa de glucosa.

Después de una noche en ayunas, se insertó un catéter intravenoso en la vena antecubital para la inyección de glucosa a la dosis de 330 mg/Kg en forma de suero glucosado al 50% (Glucosmon ® Laboratorio Nycomed Leo) infundido en un tiempo de 1 a 1,5 minutos. El mismo catéter se utilizó para las extracciones de sangre, que se realizaron antes y tras 5, 10, 15, 30 y 60 minutos de la sobrecarga de glucosa, para determinar las concentraciones plasmáticas en cada punto de glucosa, insulina, adrenalina, noradrenalina, ácidos grasos libres, glucagón y pancreastatina. Asimismo, se determinaron las concentraciones basales de colesterol total, triglicéridos, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-C), colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) y colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-C).

Las muestras de sangre obtenidas en ambas pruebas fueron recogidas en tubos de heparina-litio conteniendo 0,1 ml de aprotinina (Trasylo1, 20.000U/l; Bayer AG, Leverkusen, Alemania). Tras ser centrifugadas, el plasma se dividió en alícuotas que fueron conservadas a -20°C.

3.5. Radioinmunoensayo de pancreastatina.

El antisuero fue obtenido en el Peptide Institute, Inc. (Osaka, Japón) de conejos tratados con [Pyr³³]-pancreastatina (porcina 33-49). [Tyr]⁰-pancreastatina sintética (porcina 1-49) (Peninsula Laboratories Europe Ltd, St Helens, Merseyside, UK) fue yodada por el método de la cloramina T²⁷² a una actividad específica de 5.6×10^{11} Bq/mmol y purificada por filtración el gel (Sephadex G-50; Pharmacia Biosystems Ltd, Milton Keynes, UK). El ensayo fue realizado en 0,5 ml de buffer ortofosfato 0,01 mol/l, 0,14 mol/l de cloruro sódico (pH 7,4) conteniendo 0,01 mol/l de EDTA, 0,01% de azida sódica, 0,5% de albúmina sérica bovina y 0,05% de Tween 20. Las preparaciones para la curva estándar (6-800 pmol/l de pancreastatina humana; Peninsula Laboratories Europe, Ltd) y las muestras reconstituídas en buffer para radioinmunoensayo fueron incubadas con antisuero (1:50.000) durante 24 h a 4°C. Posteriormente, se añadió 0,1 ml de marcador (9000 c.p.m.) y se mantuvo la incubación otras 48h a 4°C. La separación del péptido unido y el no unido se consiguió añadiendo 0,5 ml de carbón activado (5%)-dextrano T-70 (0,5%) suspendido en buffer de radioinmunoensayo. La radioactividad se midió en un contador gamma (Pharmacia-LKB Biotechnology, Upsala, Suecia). La sensibilidad del ensayo fue de 6pmol/l. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron respectivamente del 12 y el 7%. La recuperación de la pancreastatina humana añadida estuvo en el rango de 85-117%. Diluciones

seriadas de muestras mostraron una buena linealidad (80-120%). La especificidad del anticuerpo antipancreastatina fue medida sin presentar reacción cruzada contra el péptido YY, somatostatina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina humana, secretina y b-endorfina. Se encontró una reactividad cruzada del 100% frente a pancreastatina porcina 1-49 y 33-49. Otros investigadores han encontrado previamente una mínima reactividad cruzada de este anticuerpo con la cromogranina A humana ($< 0,1 \%$)²⁷³.

Antes del ensayo de la pancreastatina, muestras de 2 ml recién descongeladas fueron semipurificadas haciéndolas pasar a través de un Sep-Pak C18 (Waters Associates Inc., Milford, Massachusetts, USA). La pancreastatina fue diluída en 2 ml de acetonitrilo al 60% y secada con nitrógeno. Las muestras fueron reconstituídas en 0,4 ml de buffer de ensayo usándose 0,1 ml para cada determinación en duplicado.

3.6. Determinaciones de hormonas

La insulina plasmática se midió mediante un kit de inmunoenzimoensayo (Boehringer-Mannheim GmbH, Mannheim, Alemania)²⁷⁴. Las determinaciones de glucagon se realizaron con un kit de radioinmunoensayo (Medgenix IRE, Bruselas, Bélgica)²⁷⁵. Las catecolaminas plasmáticas fueron determinadas, tras extracción en óxido de aluminio, por cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica, tal como se ha descrito

previamente²⁷⁴, excepto que se utilizó un detector electroquímico modelo 460 (Waters Associates Inc.)²⁷⁶.

3.7. Análisis bioquímicos.

La glucosa plasmática se determinó por el método de la glucosa oxidasa. Los triglicéridos, el colesterol total y el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad se determinaron por test colorimétrico enzimático y técnica de precipitación (cloruro de magnesio-fosfotungstato; kit de Boehringer-Mannheim GmbH). La determinación de lipoproteínas se llevó a cabo mediante un paso de ultracentrifugación²⁷⁷. Los ácidos grasos libres se midieron usando un kit enzimático colorimétrico (Boehringer-Mannheim GmbH).

3.8. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante análisis de la varianza para comparaciones múltiples, con un post test (Bonferroni) para valorar el grado de significación de las diferencias con el grupo control.

4. RESULTADOS

Las características antropométricas y los resultados de la prueba de supresión de la insulina de los pacientes hipertensos se muestran en la Tabla 4.1:

SEXO	EDAD	TALLA	PESO	BMI	TAS	TAD	PULSO	SSPG	SSPI
H	51	1.68	67.2	23.8	168	102	68	102.4	41.7
M	45	1.64	71.3	26.5	141	100	96	133.6	42.3
H	59	1.67	70.4	25.2	172	102	84	142.3	43.1
M	60	1.62	62.4	23.7	170	100	64	168.6	42.7
M	49	1.59	67.2	26.5	172	110	76	173.5	48.3
M	47	1.65	72.3	26.5	152	102	76	185.3	37.9
M	51	1.51	59.2	25.9	164	104	92	191.9	38.5
H	41	1.77	83.4	26.6	134	100	68	254.4	46.8
H	50	1.71	76.2	26.0	144	102	72	281.6	45.4
H	49	1.74	71.5	23.6	138	100	96	331.6	43.6
H	50	1.68	75.1	26.6	142	94	74	353.2	38.5
H	47	1.62	69	26.2	190	112	72	354.4	44.5
M	45	1.60	61.1	23.8	144	96	100	382.6	43.2

Tabla 4.1

El test de supresión de insulina realizado a individuos sanos, normotensos y de características comparables al grupo de hipertensos aportó unos valores de SSPG de $159,02 \pm 69$ mg/dl (Media \pm D.E.)²⁷⁸, a partir de los cuales se

establecieron dos grupos de hipertensos: insulín resistentes, con SSPG superior a 228,02 mg/dl (media más una D.E. del grupo de individuos sanos) y no insulín resistentes, con SSPG inferior a esa cifra. A los jóvenes se los dividió por tanto en tres grupos:

-Grupo Control.

-Grupo I (hijos de hipertensos insulín resistentes).

-Grupo II (hijos de hipertensos no insulín resistentes).

Las características clínicas de estos sujetos se muestran en la Tabla 4.2:

	CONTROLES	GRUPO I	GRUPO II
SEXO (H/M)	4/6	9/6	8/6
EDAD	22±0,15	21±1,3	19±1,1
BMI (Kg/m²)	24±0,5	25±0,4	26±0,5
Glucemia basal (mg/dl)	84±3	93±3	90±3
TAS	115±4	119±4	103±6
TAD	67±4	69±3	59±3

Tabla 4.2

4.2. Lípidos plasmáticos

Los valores plasmáticos de triglicéridos fueron muy similares en los tres grupos: 89±10 mg/dl en los controles, 82±12 mg/dl en grupo I y 85±13 mg/dl, con un intervalo de confianza del 90%. De igual forma no se encontraron

diferencias en los niveles de ácidos grasos libres: $275,4 \pm 20,5$; $255,6 \pm 22,0$ y $240,0 \pm 23,2$ $\mu\text{mol/l}$ en controles, grupo I y grupo II respectivamente.

El colesterol total fue normal en todos los grupos sin mostrar diferencias significativas: 180 ± 10 mg/dl en controles, 166 ± 11 mg/dl en grupo I y 172 ± 10 mg/dl en grupo II, al igual que las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-C: 20 ± 3 mg/dl en controles, $17 \pm \text{mg/dl}$ en grupo I y 17 ± 3 mg/dl en grupo II); y las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C: 106 ± 8 mg/dl en controles, 98 ± 7 mg/dl en grupo I y 102 ± 6 mg/dl en grupo II). El grupo de hijos de insulín resistentes (Grupo I) mostró niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) ligeramente inferiores a los del grupo control (51 ± 4 vs 64 ± 7 mg/dl) aunque la diferencia no fue significativa ($p < 0,25$, con un intervalo de confianza del 90%). Los hijos de no insulín resistentes mostraron niveles de HDL-C similares al grupo control (55 ± 3 mg/dl).

4.3. Prueba de sobrecarga intravenosa de glucosa.

Los niveles de insulinemia se muestran en las figuras 4.1 y 4.1(b)

Los hijos de hipertensos con IR presentaron una mayor respuesta insulínica a la glucosa siendo significativas las diferencias en los puntos relativos a los minutos 10 y 15. La respuesta insulínica de los hijos de hipertensos no IR fue similar a la del grupo control. No se apreciaron diferencias al comparar a los controles con el total de los hijos de hipertensos. Los valores puntuales para cada grupo se muestran en la tabla 4.3 (en $\mu\text{U/ml}$) :

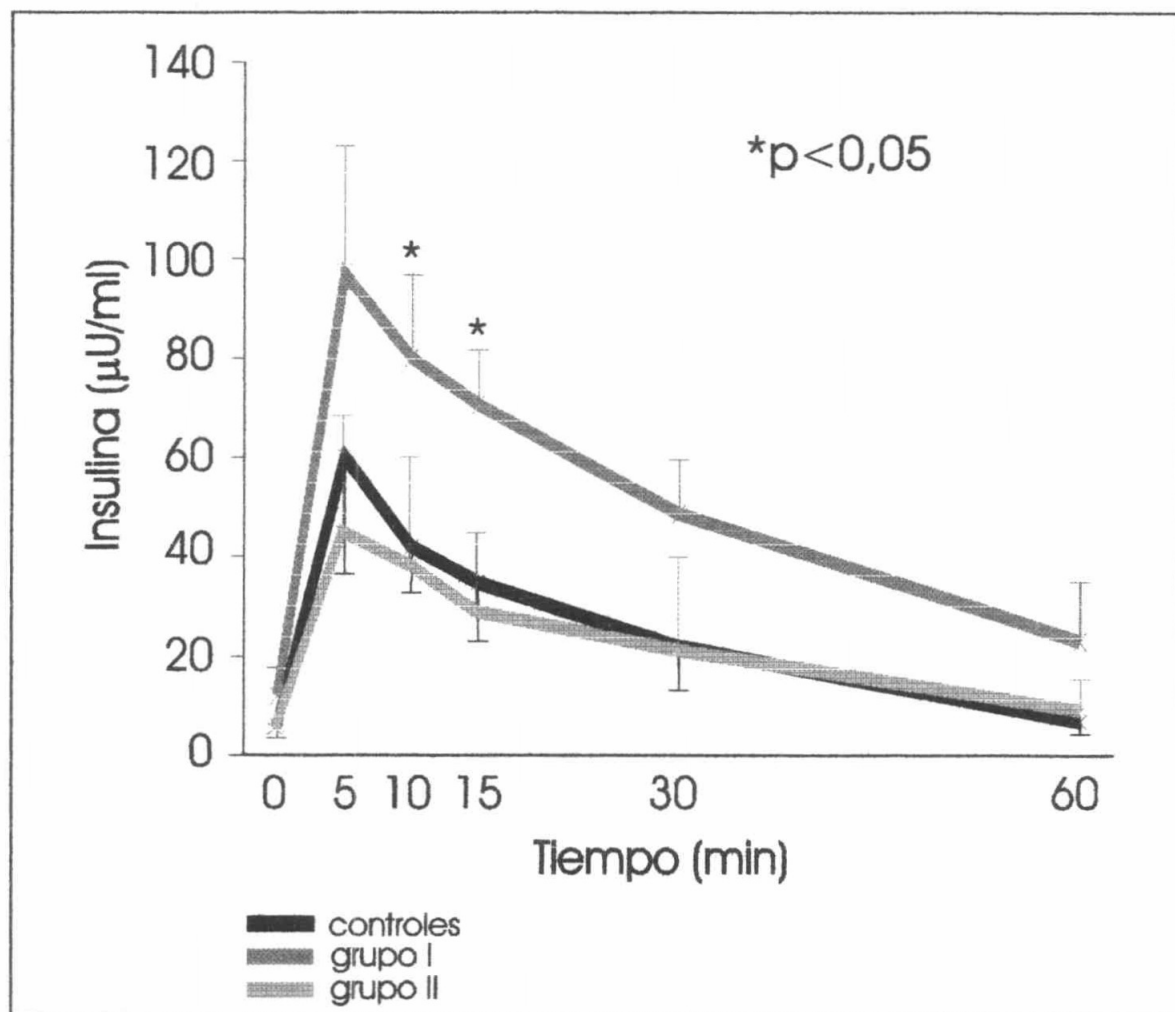


Figura 4.1: Insulinemias en los tres grupos estudiados.

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	6,2±2,6	60,2±23,8	42,0±9,3	34,7±11,7	21,8±8,6	7,0±2,6
GRUPO I	11,3±5,9	97,0±56,2	80,0±40,8	70,4±38,9	48,2±39,6	22,3±23,6
GRUPO II	5,4±2,4	45,3±23,5	38,4±21,9	29,0±16,1	21,3±18,9	9,1±6,3
TOTAL DE HIJOS	8.4±5.2	70±46.4	57.2±35.9	47.5±33.7	32.5±31.1	14.8±17.3

Tabla 4.3: Insulinemias.

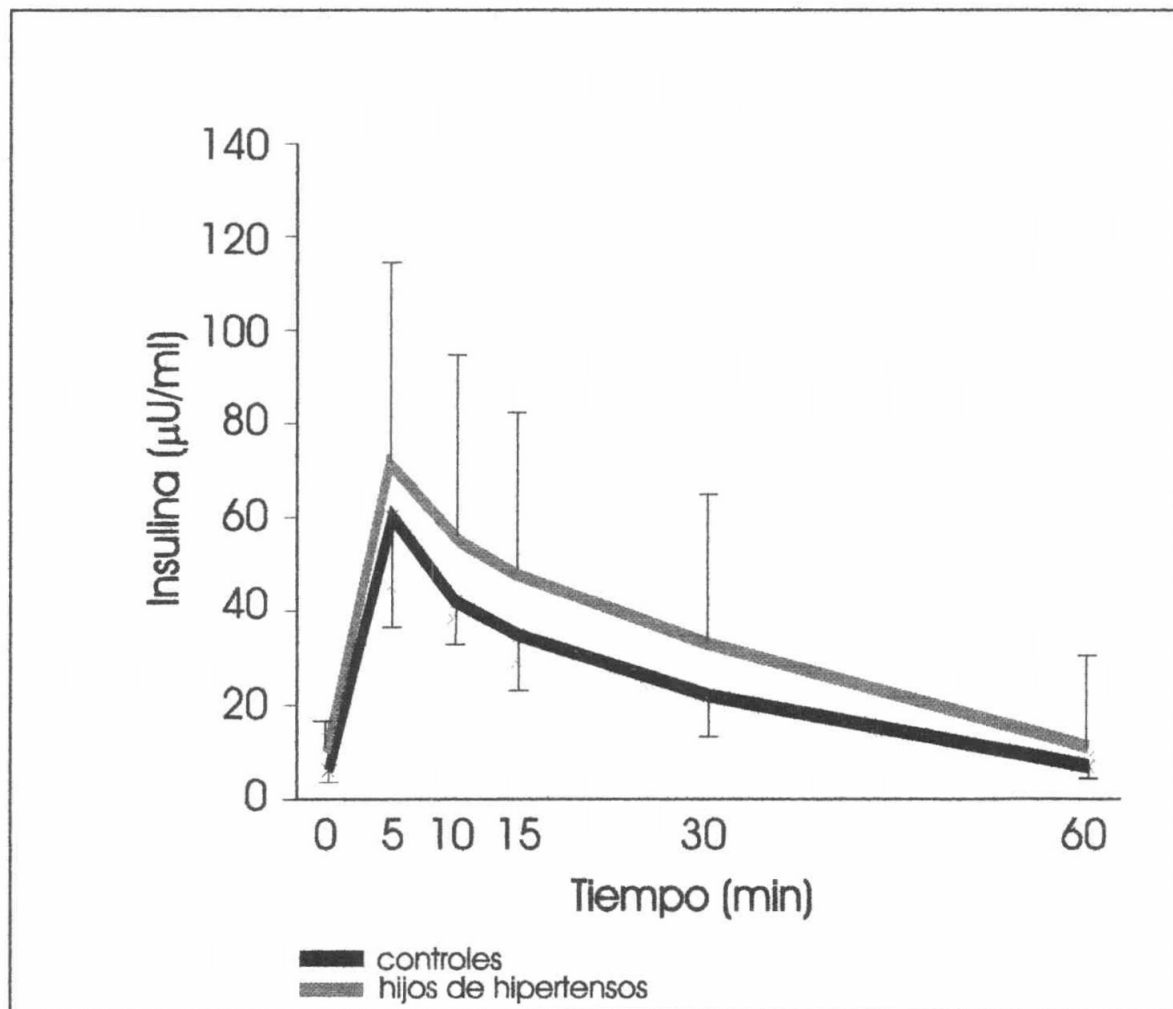


Figura 4.1(b): Insulinemias en el grupo de control frente al total de hijos de hipertensos

No se apreciaron diferencias significativas entre los tres grupos para los distintos valores puntuales de glucemia, que se muestran en la figura 4.2 .

Los valores puntuales se muestran en la tabla 4.4 (en mg/dl):

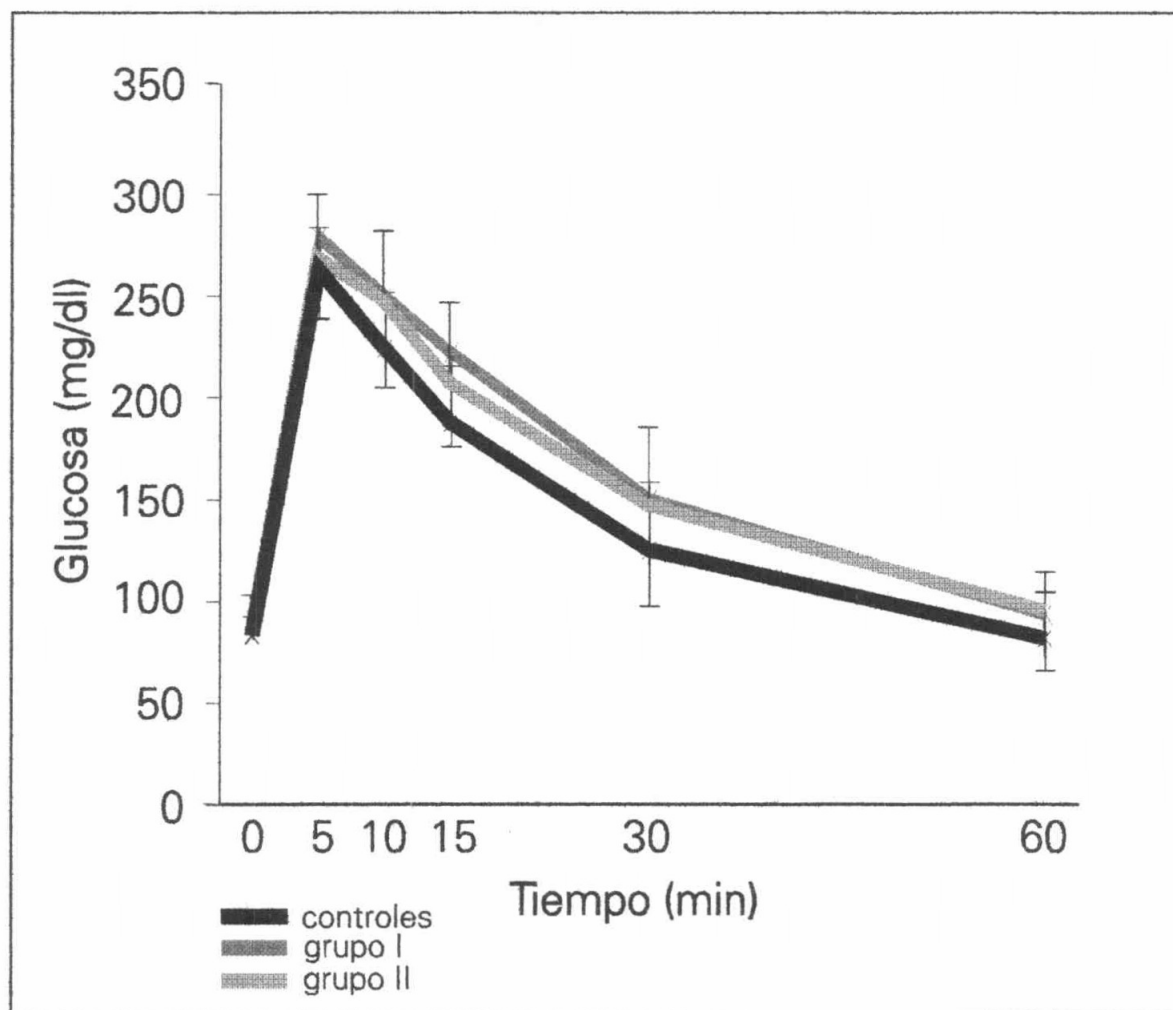


Figura 4.2

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	83,4±9,3	263,0±20,8	224,0±27,8	187,7±28,0	125,5±33,5	82,1±22,7
GRUPO I	89,8±9,6	275,0±39,3	246,7±44,4	219,0±45,2	148,1±52,0	92,6±27,5
GRUPO II	93,8±7,7	265,3±30,0	244,0±33,9	204,2±39,0	145,1±37,4	93,8±18,7

Tabla 4.4: Glucemias.

Como puede observarse, el pico tras la inyección de glucosa es similar en los 3 grupos, regresando a valores basales a los 60 minutos.

Como se muestra en las figuras 4.3 y 4.4 y en las tablas 4.5 y 4.6 respectivamente, los niveles plasmáticos de glucagon y ácidos grasos libres disminuyeron tras la sobrecarga de glucosa. En el caso del glucagón, el descenso se debió a la inhibición de su síntesis por la glucosa y en el de los ácidos grasos libres por la acción de la insulina infundida. Sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas entre los tres grupos en ninguno de los valores puntuales.

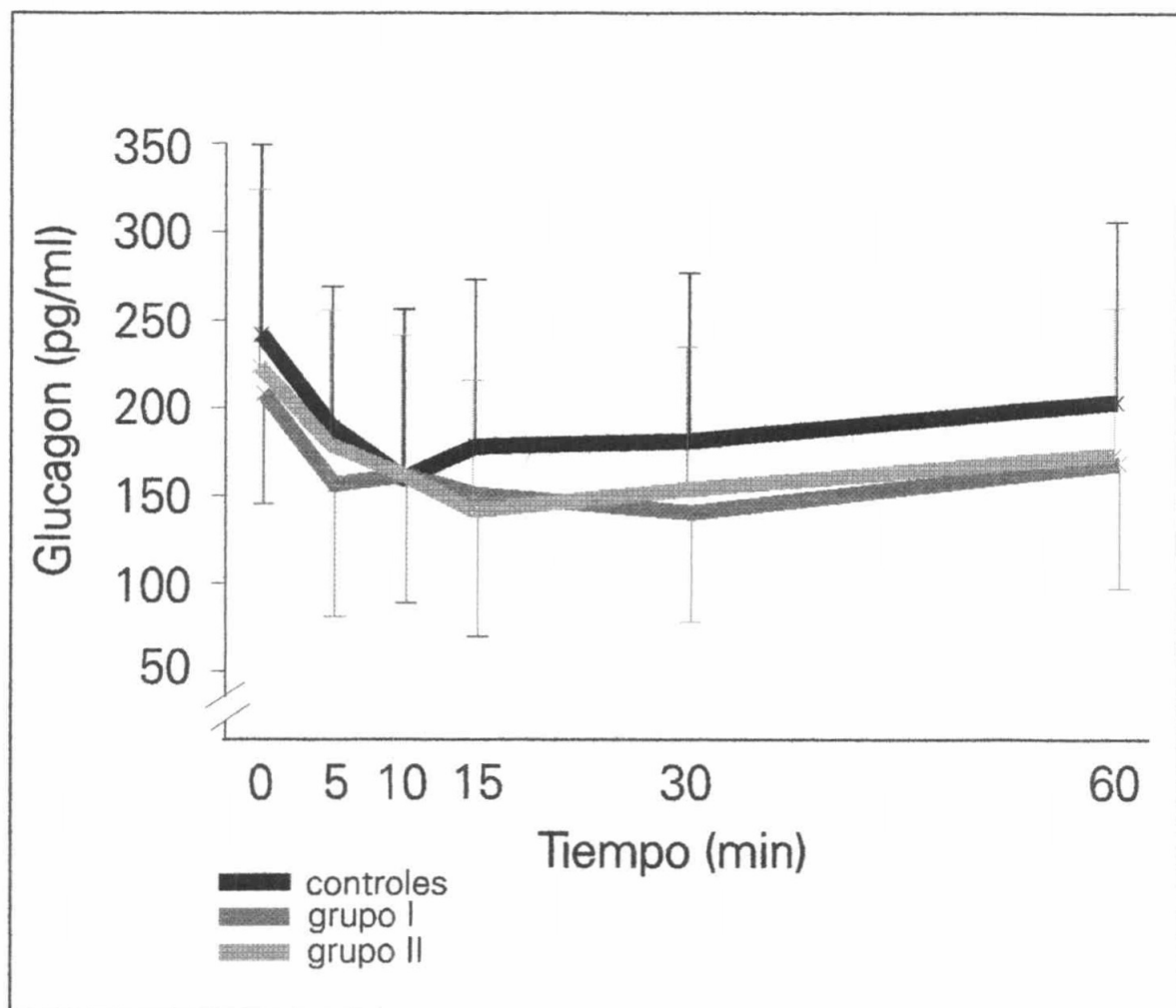


Figura 4.3

Los valores obtenidos para glucagon fueron (en pg/ml):

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	241,7±107,4	188,7±80,6	159,7±96,4	177,8±95,2	180,7±95,9	203,2±102,4
GRUPO I	209,4±62,9	157,5±74,78	162,7±72,6	151,6±80,4	141,6±62,3	169,7±71,4
GRUPO II	223,8±100,0	179,2±76,4	162,0±79,5	141,2±74,4	153,3±81,3	173,3±84,2

Tabla 4.5: Glucagon.

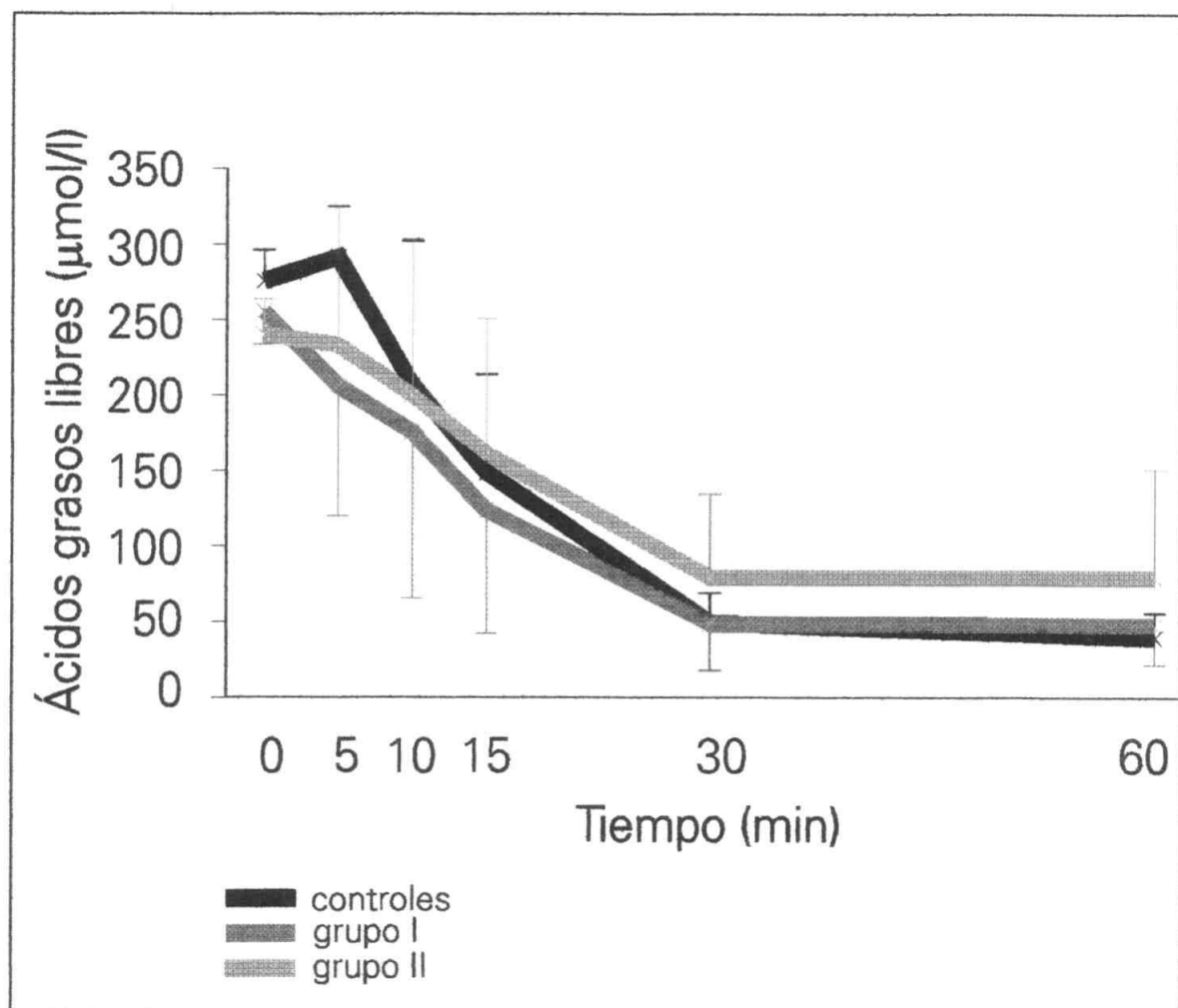


Figura 4.4

Los valores obtenidos de ácidos grasos libres fueron (en $\mu\text{mol/l}$):

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	275,4±20,5	291,2±33,2	206,6±95,0	148,8±64,8	49,2±19,6	39,6±16,3
GRUPO I	255,6±22,0	206,2±86,4	175,5±109,9	123,6±81,4	48,9±30,9	47,3±25,4
GRUPO II	240,0±23,2	233,1±92,7	199,9±102,8	161,4±89,5	79,1±55,5	78,6±72,3

Tabla 4.6: Ácidos grasos libres.

Las figuras 4.5 y 4.6, así como las tablas 4.7 y 4.8 muestran respectivamente los niveles de catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) antes y tras la sobrecarga de glucosa. No encontramos cambios significativos tanto para catecolaminas o pancreastatina después de la sobrecarga en ninguno de los grupos. Además, los niveles plasmáticos a lo largo de la prueba fueron similares en los tres grupos estudiados, sin diferencias significativas.

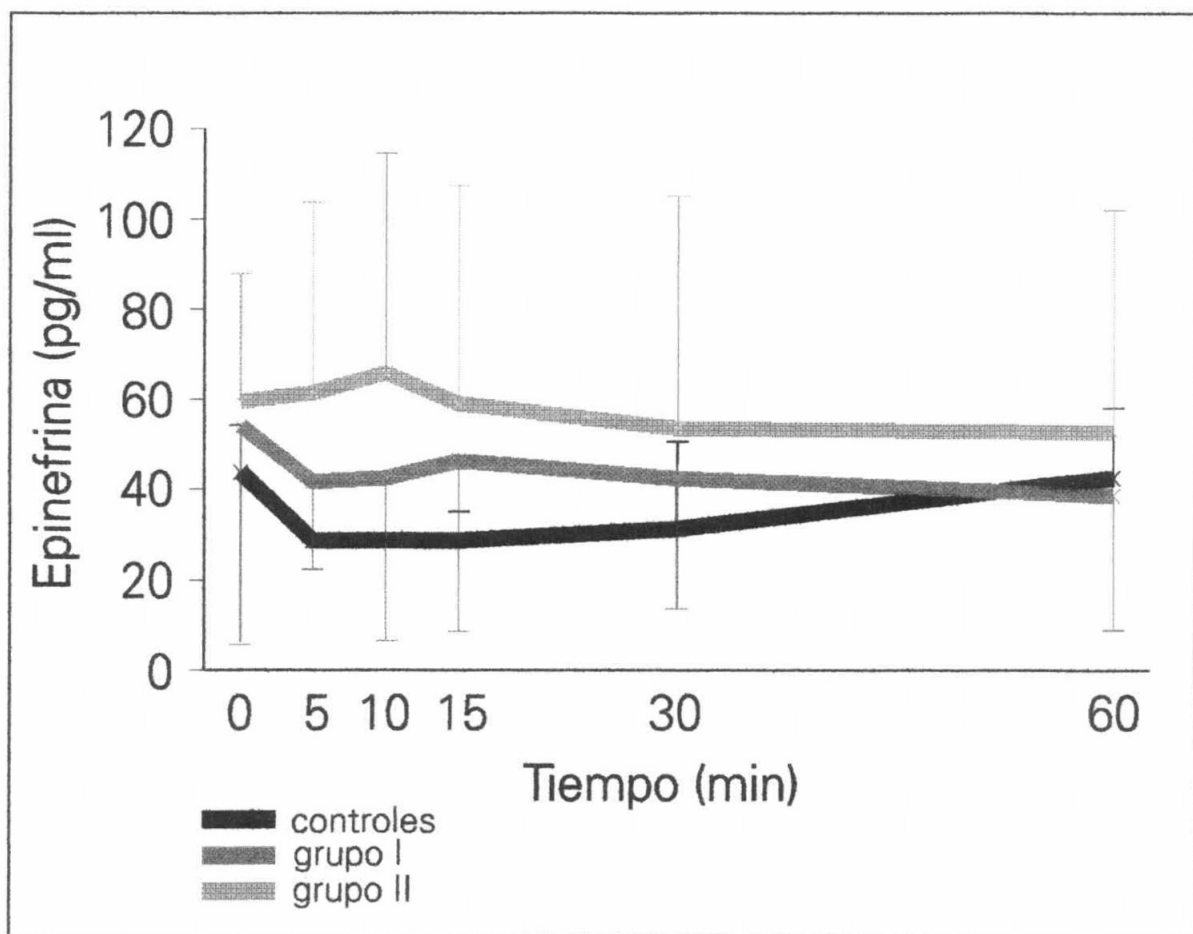
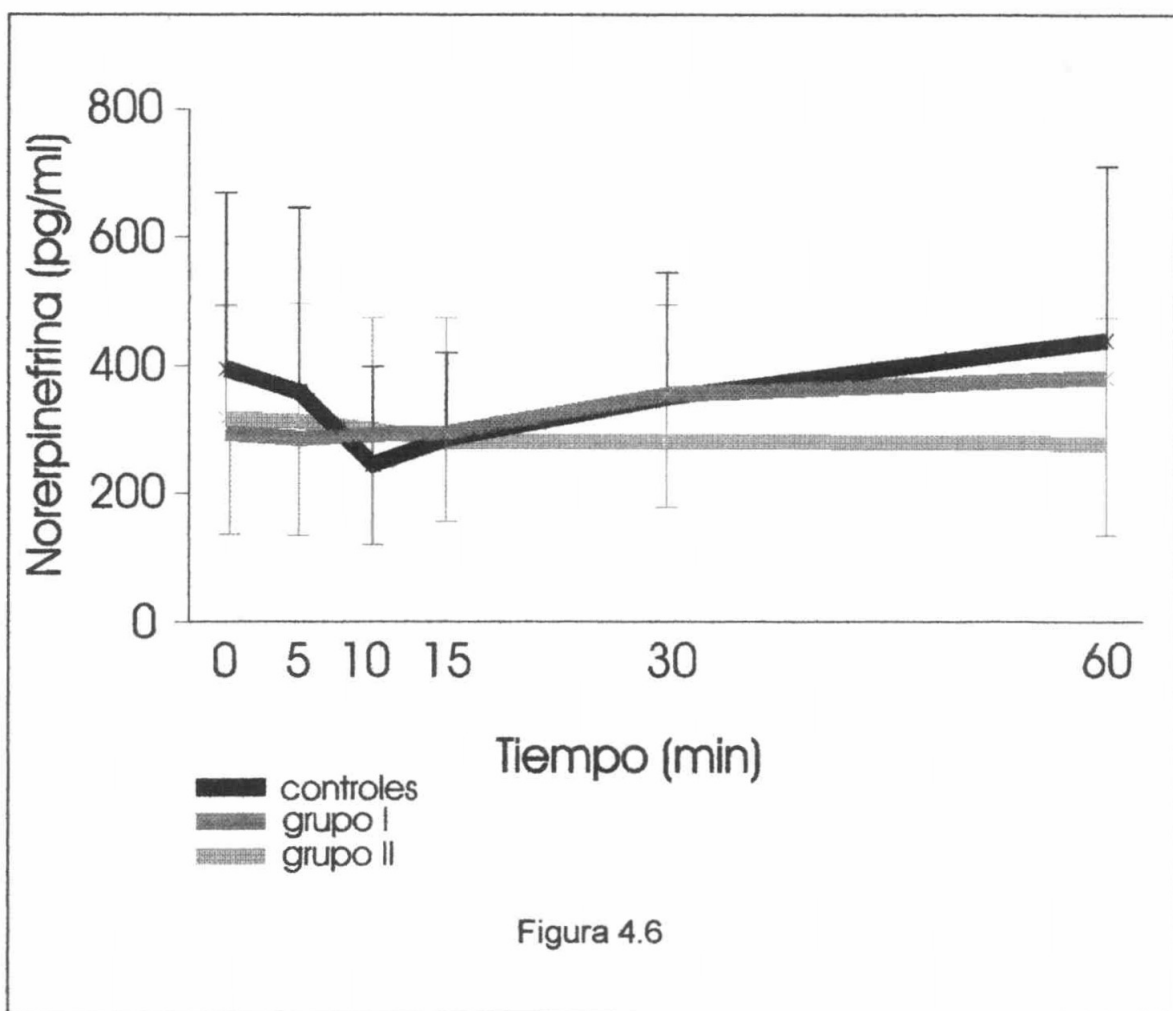


Figura 4.5

Los valores obtenidos de epinefrina fueron (en pg/ml):

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	43,7±10,3	28,7±14,3	28,7±13,1	28,7±6,3	31,2±19,3	42,5±15,5
GRUPO I	54,7±48,1	42,2±19,3	43,1±36,2	46,8±37,7	42,9±28,6	39,1±29,6
GRUPO II	59,9±28,4	62,0±42,4	66,3±48,5	59,5±48,6	54,0±51,7	53,0±49,6

Tabla 4.7: Epinefrina



Los valores obtenidos de norepinefrina fueron (en pg/ml):

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	395,0±273,4	358,7±286,6	245,0±152,6	285,0±135,0	350,0±194,3	438,7±270,2
GRUPO I	294,0±181,8	285,5±152,4	291,5±172,0	294,5±138,0	354,3±177,0	381,0±247,5
GRUPO II	315,4±178,3	312,4±184,8	299,7±174,1	281,1±193,6	281,4±213,0	277,7±196,9

Tabla 4.8: Norepinefrina.

La figura 4.7 y la tabla 4.9 muestran los valores obtenidos en cada grupo para la pancreastatina. Como puede observarse no existen diferencias significativas entre los tres grupos para cada uno de los puntos durante la prueba.

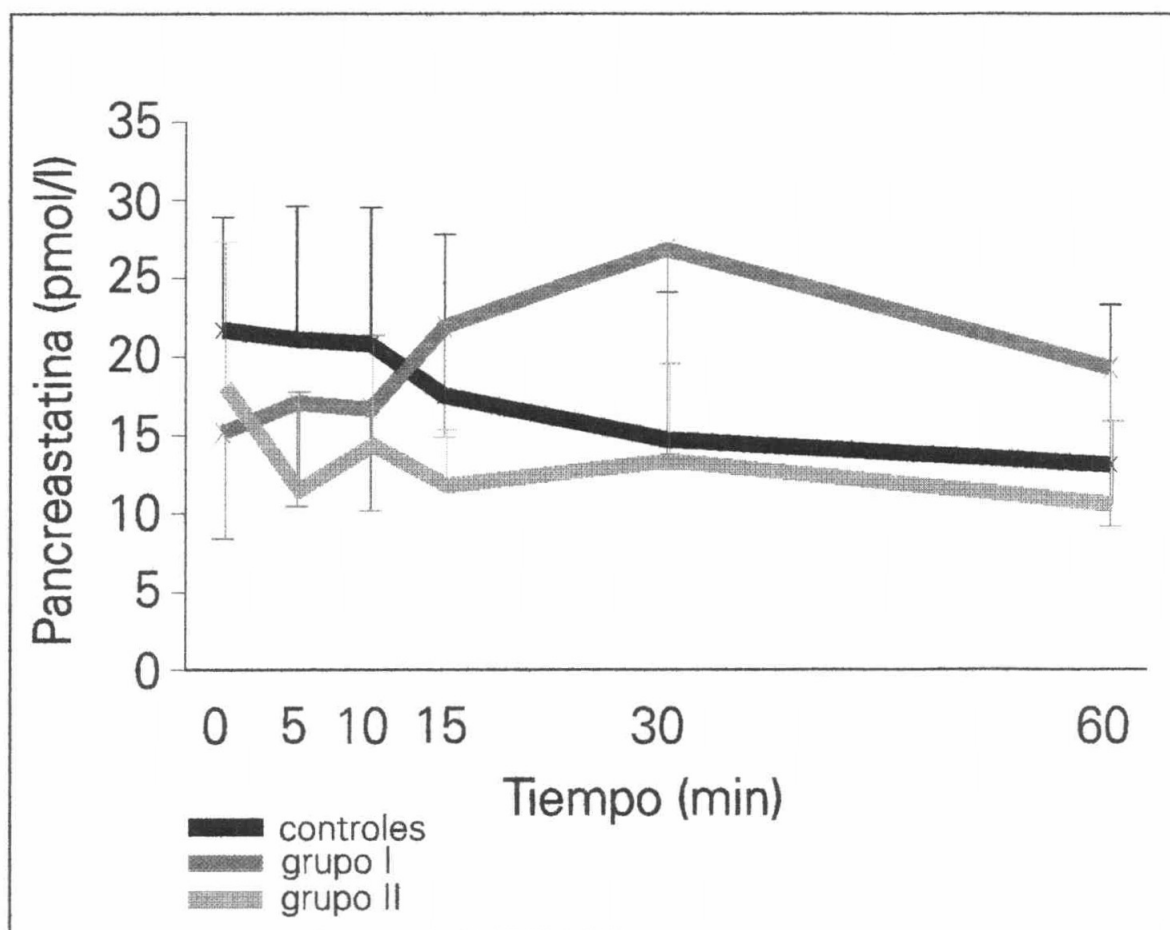


Figura 4.7

Los valores obtenidos de pancreastatina fueron (en pmol/l):

	BASAL	5'	10'	15'	30'	60'
CONTROL	21,7±7,2	21,1±8,5	20,9±8,7	17,6±10,3	14,7±9,4	13,1±10,2
GRUPO I	15,4±6,9	17,3±6,7	16,8±6,6	22,2±7,2	27,2±14,3	19,4±21,5
GRUPO II	18,4±9,2	11,7±6,3	14,6±7,0	12,0±3,6	13,6±6,2	10,8±5,3

Tabla 4.9: Pancreastatina.

5 DISCUSIÓN

La agregación familiar que muestra la HTA sugiere la existencia de mecanismos genéticos implicados en su patogenia. Si bien existen formas raras de hipertensión con un claro mecanismo genético, la herencia de la HTA esencial responde más bien a mecanismos poligénicos que, a través del desencadenamiento de ciertas circunstancias fisiopatológicas denominadas "fenotipos intermedios", tendrían como resultado final la elevación mantenida de la presión arterial.

Entre estos fenotipos intermedios los trastornos del metabolismo de los hidratos de carbono, y en concreto el estado de resistencia a la insulina, han sido ampliamente estudiados. La asociación entre RI y HTA así como los posibles mecanismos que los relacionan han sido puestos de manifiesto en gran cantidad de trabajos y brillantemente resumizados por Reaven hace ya casi una década¹¹⁸. Además, un importante número de trabajos ha demostrado la existencia de alteraciones en la sensibilidad a la insulina en hijos de hipertensos, reforzando la idea de que la RI y la hiperinsulinemia compensadora serían los mecanismos subyacentes que se heredarían, mientras que el aumento de la actividad simpática sería el eslabón entre la acción de la insulina y el desencadenamiento de la HTA.

El grado de sensibilidad o resistencia a la acción de la insulina es un parámetro que se mueve en la población a lo largo de un espectro continuo de valores, adoptando una distribución normal¹²⁴. Por lo tanto, como en otros

parámetros biológicos de distribución similar, establecer el punto de corte entre normalidad y alteración se torna una decisión basada en los valores obtenidos en una población de características similares al grupo de pacientes, pero en la que no se encuentren presentes ni la hipertensión arterial ni ningún otro factor que hasta el momento actual se haya demostrado que altere dicha sensibilidad. En este sentido, en nuestro trabajo se ha tenido buen cuidado en evitar tanto en el grupo control como en el de hipertensos factores como obesidad, tabaquismo, diabetes o medicación concomitante.

La elección como punto de corte entre resistencia y no resistencia a la acción de la insulina al valor de la media más una desviación estándar del SSPG del grupo control es un procedimiento ampliamente aceptado desde el punto de vista metodológico en estudios similares^{114,118}.

Los resultados obtenidos en el grupo de pacientes hipertensos al realizar el test de supresión con somatostatina son similares a los encontrados en otros estudios^{113,114,117} y confirman una vez más la afirmación de Reaven de que:

Basados en estas consideraciones, parece razonable concluir en este punto con que la resistencia a la captación de glucosa estimulada por la insulina, la intolerancia a la glucosa y la hiperinsulinemia son características de una cierta proporción de pacientes con hipertensión¹¹⁸.

Sin embargo, aún siguen pendientes dos cuestiones fundamentales. Por una parte, cual es la causa de la resistencia a la insulina, a qué nivel se produce y cual es el mecanismo fundamental que ocasiona dicha alteración. Por otra, cual es la relación entre la resistencia a la insulina y la elevación mantenida de la presión arterial.

Ya hemos hecho una descripción de los posibles mecanismos a través de los cuales puede desencadenarse la resistencia a la insulina. Sin embargo, la evidencia de un péptido como la PST, que inhibe la secreción de insulina, actuando como modulador de la acción de ésta^{168,176,177,208,215,220,221-234} apuntaba hacia la posibilidad de que jugara un papel en todo este proceso. Tanto más cuando se han demostrado niveles significativamente más elevados de PST en pacientes hipertensos en comparación con individuos sanos²¹⁶.

La existencia de gran número de trabajos que demuestran ya una alteración en la sensibilidad a la insulina en hijos jóvenes normotensos de padres hipertensos^{271,279-284} hace lógica la idea de que el posible papel de la PST ya se pusiera de manifiesto a esa edad.

En este sentido, los resultados de nuestro trabajo aportan la evidencia de que si bien los hijos de padres hipertensos tomados en conjunto no muestran diferencias en su respuesta insulínica con respecto a individuos jóvenes sin historia familiar de HTA, cuando se los divide según la existencia de RI en sus

padres, el grupo de hijos de hipertensos con RI muestra una clara diferencia con respecto a los demás. Sin embargo, los niveles de PST no difieren significativamente entre los tres grupos, por lo que no parece que sea su acción sobre la secreción de insulina un mecanismo importante en el desencadenamiento de la resistencia a la insulina.

Como ya se ha mencionado, uno de los mecanismos más plausibles que se han propuesto para explicar la relación entre la hiperinsulinemia compensadora de la resistencia a la insulina y la hipertensión arterial es la estimulación del sistema nervioso simpático, con un aumento de la secreción de catecolaminas. Gran número de trabajos han puesto de manifiesto que en las primeras fases de la hipertensión arterial existe una hiperreactividad simpática que se manifiesta entre otros signos con un aumento del gasto cardíaco²⁸⁵. Recientemente se ha publicado un trabajo en que se demuestra una correlación positiva y significativa entre la frecuencia cardíaca, medida por el intervalo RR latido a latido durante el sueño, y la respuesta insulínica a la prueba de sobrecarga oral de glucosa por una parte ($R=0,5$, $p<0,001$) y el SSPG del test de supresión con somatostatina por otra ($R=0,61$, $p<0,001$)^{286,287}.

La PST se cosegrega con las catecolaminas en forma equimolar a partir de las terminaciones nerviosas adrenérgicas, por lo que el aumento de sus niveles en pacientes hipertensos podría ser el resultado de esta sobreestimulación

simpática ocasionada por la insulina. Por tanto, nuestros resultados sugieren que tanto la PST como las catecolaminas pueden no jugar un papel relevante en el desencadenamiento de la resistencia a la insulina. Más bien podría apuntarse que, al ser ambas potentes antagonistas de la acción de la insulina tanto in vivo como in vitro su acción tendría importancia en la fisiopatología del síndrome una vez establecido, empeorando la resistencia a la insulina y cerrando un círculo vicioso.

De cualquier forma, teniendo en cuenta que, en contraste con otros trabajos, nosotros no hemos puesto de manifiesto diferencias en la concentración de catecolaminas entre los hijos de padres hipertensos y los controles, ni tampoco en lo que respecta a la PST, creemos que son necesarios estudios longitudinales para ver si el aumento de la actividad simpatoadrenal precede a la hipertensión y si existen diferencias entre los distintos grupos.

6. CONCLUSIONES

1. No existen diferencias en la respuesta insulínica a la sobrecarga intravenosa de glucosa entre el grupo de hijos de hipertensos tomados en conjunto y el grupo control.
2. Sin embargo, sí existe aumento de respuesta insulínica a la sobrecarga intravenosa de glucosa en los hijos de los pacientes hipertensos con resistencia a la insulina, lo que demuestra una alteración precoz del metabolismo de los hidratos de carbono.
3. A diferencia de lo que sucede en sujetos hipertensos, en los hijos normotensos no existe alteración de los niveles de pancreastatina, lo que sugiere que ésta no juega un papel etiopatogénico en la alteración precoz de la secreción de la insulina que hemos encontrado.
4. De igual forma, tampoco existen alteraciones en la secreción de catecolaminas en los hijos normotensos a diferencia de los sujetos ya hipertensos, sugiriendo que esta alteración no está genéticamente condicionada ni se produce precozmente.
5. No existen diferencias entre los distintos grupos en los niveles de lípidos plasmáticos y en concreto aquellos que caracterizan el síndrome de resistencia a la insulina: aumento de los triglicéridos y disminución de las lipoproteínas de alta densidad.

6. Por todo lo anterior, podemos concluir que aquellos individuos jóvenes y normotensos con historia familiar de hipertensión arterial y resistencia a la insulina muestran precozmente una respuesta exagerada de insulina a la sobrecarga de glucosa sin relación con los niveles de catecolaminas ni pancreastatina y sin mostrar, al menos en los primeros estadios, alteraciones de los lípidos plasmáticos, pero que ya evidencia una alteración del metabolismo hidrocarbonado. Esta respuesta hiperinsulinémica podría condicionar a la larga un aumento del tono simpático y por lo tanto de los niveles de catecolaminas y pancreastatina que, como hormonas contrarreguladoras de la acción de la insulina, coadyuvarían a perpetuar el síndrome de resistencia a la insulina y las alteraciones lipídicas que el mismo ocasiona.

7. BIBLIOGRAFÍA

¹Morgagni JB. De sedibus et causis Morborum per Anatomen Indagatis, vol 1. Venice: Remondiana, 1761.

²Feinlieb M. Genetics and familial aggregation of blood pressure. In: Onesti G, Klimt CR, eds. Hypertension determinants, complications and intervention. New York: Grune and Stratton, 1979;35-48.

³Rapp JP. Genetics of experimental and human hypertension. In: Genest J, Kuchel O, Hamet P, Cantin M, eds. Hypertension: physiopathology and treatment. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1983;582-598.

⁴Kannel WB. Host and environmental determinants of hypertension. In: Kesteloot H, Joosens JV, eds. Epidemiology of arterial blood pressure. The Hague: Martinus Nijhoff, 1980;265-295.

⁵Genest J, Kuchel O, Hamet P, Cantin M, eds. Hypertension: physiopathology and treatment, 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1983.

⁶Master AM, Dublin LI, Marks RH. The normal blood pressure range and its clinical implications. JAMA 1950; 143:1464-1473.

⁷Whyte HM. Blood pressure and obesity. *Circulation* 1959;19:511-522.

⁸Kannel WB, Brand N, Skinner JJ, et al. The relation of adiposity to blood pressure and development of hypertension. *Ann Intern Med* 1967;67:48-59.

⁹Annest JL, Sing CF, Biron P, et al. Familial aggregation of blood pressure and weight in adoptive families. III. Analysis of the role of shared genes and shared household environment in explaining family resemblance for height, weight and selected weight/height indices. *Am J Epidemiol* 1983; 117:492-506.

¹⁰Mongeau J-G, Biron P, Sing CF. The influence of genetics and household environment on the variability of normal blood pressure: the Montreal adoption study. In: Filer LJ, Lauer RM, eds. *Children's blood pressure*. Columbus, OH: Ross Laboratories, 1985;55-62.

¹¹Kotchen JM. Effect of relative weight on familial blood pressure aggregations. *Am J Epidemiol* 1977;105:214-222.

¹²Hanis CL, Sing CF, Clarke WR, et al. Multivariate models for human genetic analysis: aggregation, co-aggregation and tracking of systolic blood pressure and weight. *Am J Hum Genet* 1983;35:196-210.

¹³Stunkard AI, Sorensen TIA, Hanis C, et al. An adoption study of human obesity. *N Engl J Med* 1986;314: 193-198.

¹⁴Price RA, Cadoret RJ, Stunkard AJ, Troughton E. Genetic contributions to human fatness: an adoption study, *Am J Psychiatry* 1987; 144:1003-1008.

¹⁵Bogardus C, Lillioja S, Ravussin E, et al. Familial dependence of the resting metabolic rate. *N Engl J Med* 1986;315:96-100.

¹⁶Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, et al. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body weight gain. *N Engl J Med* 1988; 318:467-472.

¹⁷Paffenbarger RS, Wing AL, Hyde RT, Jung DL. Physical activity and incidence of hypertension in college alumni. *Am J Epidemiol* 1983; 117:245-257.

¹⁸Slattery ML, Bishop DT, French TK, et al. Lifestyle and blood pressure levels in male twins in Utah. *Genet Epidemiol* 1988;5:277-287.

¹⁹Donnison CP. Blood pressure in the African native: its bearing upon the aetiology of hyperplasia and arteriosclerosis. *Lancet* 1929;i:6-9.

²⁰Keith KM, Wagener HP, Barker NW. Some different types of essential hypertension-their course and prognosis. *Am J Med Sci* 1939; 197:332-339.

²¹Scotch NA. Sociocultural factors in the epidemiology of Zulu hypertension. *Am J Public Health* 1963;53:1205-1213.

²²Akinkugbe OO. Epidemiology of hypertension and stroke in Africa. In: Hateno S, ed. *Hypertension and stroke control in the community*. Geneva: World Health Organization, 1976;28-42.

²³Vaughn JP, Miall WE. Cardiovascular measurements in subjects of African origin. *Bull WHO* 1979; 57:281-289.

²⁴Murphy W. Some observations on blood pressure in the humid tropics. *NZ Med J* 1955;54:64-67.

²⁵Ward RH. Genetic and sociocultural components of high blood pressure. *Am J Phys Anthropol* 1983;62:91-105.

²⁶Prior IAM, Evans JG, Harvey HPB, et al. Sodium intake and blood pressure in two Polynesian populations. *N Engl J Med* 1968;279:5 15-520.

²⁷Page LB. Epidemiologic evidence on the etiology of human hypertension and its possible prevention. *Am Heart J* 1976;9 1:527-534.

²⁸Oliver WJ, Cohen EL, Neel JV. Blood pressure, sodium intake and sodium related hormones in the Yanomama Indians, a "no-salt" culture. *Circulation* 1975;52:146-151.

²⁹MacLean CJ, Adams MS, Leyshon WC, et al. Genetic studies on hybrid populations. III. Blood pressure in an American Black community. *Am J Hum Genet* 1974; 26:614-626.

³⁰Harburg E, Gleibermann L, Roeper P. Skin colour, ethnicity and blood pressure: Detroit. I. Blacks. *Am J Public Health* 1978;68:1177-1183.

³¹Harburg E, Gleibermann L, Ozgoren F. Skin color, ethnicity and blood pressure: Detroit. II. Whites. *Am J Public Health* 1978;68:1184-1188.

³²Tyroler HA, James SA. Blood pressure and skin colour. *Am J Public Health* 1978;68:1 170-1172.

³³Keil I, Tyroler H, Boyle E. Hypertension: effects of social class and racial admixture. *Am J Public Health* 1977;634-639.

³⁴Hutchinson J. Relationship between African admixture and blood pressure variation in the Caribbean. *Hum Hered* 1986;36:12-18.

³⁵Feinlieb M, Garrison RJ, Havlik RJ. Environmental and genetic factors affecting the distribution of blood pressure in children. In: Lauer RM, Shekelle RB, eds. *Childhood patterns of atherosclerosis and hypertension*. New York: Raven Press, 1980; 271-279.

³⁶Motulsky AG, Burke W, Billings PR, Ward RH. Hypertension and the genetics of red cell membrane abnormalities. In: Bock G, Collins G, eds. *Molecular approaches to human polygenic disease*. Chichester: Wiley, Ciba Symposium 130, 1987; 150-166.

³⁷Weitz W . Zur atologie der genuinen oder vascularen Hypertension. *Z Clin Med* 1923;96:151.

³⁸Platt R. Heredity in hypertension. *Q J Med* 1947; 16:111-132.

³⁹Sobye P. Heredity in essential hypertension and nephrosclerosis. A genetic-clinical study of 200 propositi suffering from nephrosclerosis. *Hered Hum* 1948; 16:1-225.

⁴⁰Ayman D. Heredity in arteriolar (essential) hypertension: A clinical study of blood pressure of 1,524 members of 277 families. *Arch Intern Med* 1934;53:792-803.

⁴¹Hamilton M, Pickering GW, Roberts JAF, Sowry GSC. The etiology of essential hypertension. I. The arterial pressure in the general population. *Clin Sci* 1954; 13:11-35.

⁴²Hamilton M, Pickering GW, Roberts JAF, Sowry GSC. The etiology of essential hypertension. 2. Scores for arterial blood pressure adjusted for differences in age and sex. *Clin Sci* 1954;13:37-49.

⁴³Hamilton M, Pickering GW, Roberts JAF, Sowry GSC. The etiology of essential hypertension. 4. The role of inheritance. *Clin Sci* 1954; 13:273-304.

⁴⁴Miall WE, Oldham PD. A study of arterial blood pressure and its inheritance in a sample of the general population. *Clin Sci* 1955; 14:459-488.

⁴⁵Miall WE. Follow up study of arterial pressure in the population of a Welsh mining valley. *Br Med J* 1956;ii: 1204-1208.

⁴⁶Miall WE, Oldham PD. Factors influencing arterial blood pressure in the general population. *Clin Sci* 1958; 17:409-444.

⁴⁷Miall WE, Oldham PD. The hereditary factor in arterial blood pressure. *Br Med J* 1963;i:75-80.

⁴⁸Platt R. The nature of essential hypertension. *Lancet* 1959;2:55-60.

⁴⁹Platt R. Heredity in hypertension. *Lancet* 1963;i:899-904.

⁵⁰Platt R. The influence of heredity. In: Stamler J, Stamler R, Pullman TN, eds. *The epidemiology of hypertension*. New York: Grune and Stratton, 1967;9-17.

⁵¹Pickering GW. The inheritance of arterial pressure. In: Stamler J, Stamler R, Pullman TN, eds. *The epidemiology of hypertension*. New York: Grune and Stratton, 1967; 18-27.

⁵²Ward R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. In: Laragh J, Brenner B (eds): *Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management*. New York: Raven Press. 1995;67-88.

⁵³Johnson BC, Epstein FH, Kjelsberg MO. Distributions and familial studies of blood pressure and serum cholesterol levels in a total community-Tecumseh, Michigan. *J Chronic Dis* 1965; 18:147-160.

-
- ⁵⁴Havlik RJ, Garrison RI, Feinleib M, Kannel WB, Castelli WP, McNamara PM. Blood pressure aggregation in families. *Am J Epidemiol* 1979; 110:304-312.
- ⁵⁵Wolanski N. An approach to the problem of inheritance of systolic and diastolic arterial blood pressure. *Genet Pol* 1969; 10:263-268.
- ⁵⁶Tseng WP. Blood pressure and hypertension in an agricultural and a fishing population in Taiwan. *Am J Epidemiol* 1967;86:513-525.
- ⁵⁷Ward RH, Chin PG, Prior IAM. Genetic epidemiology of blood pressure in a migrating isolate: Prospectus. In: Sing CF, Skolnick MR, eds. *Genetic analysis of common diseases*. New York: Alan Liss, 1979;675-709.
- ⁵⁸Hayes CG, Tyroler HA, Cassell JC. Family aggregation of blood pressure in Evans County, Georgia. *Arch Intern Med* 1971; 128:965-975.
- ⁵⁹Sackett DL, Anderson GD, Mimer R, Feinlieb M, Kannel WB. Concordance for coronary risk factors among spouses. *Circulation* 1975;52:589-595.
- ⁶⁰Zinner SH, Levy PS, Kass EH. Familial aggregation of blood pressure in childhood. *N Eng J Med* 1971;284:401-409.

⁶¹Zinner SH, Rosner B, Kass EH, Oh W. Familial aggregation of blood pressure in infants and children. In: Filer LI, Lauer RM, eds. Children's blood pressure. Columbus, OH: Ross Laboratories, 1985;582-598.

⁶²Biron P, Mongeau JG, Bertrand D. Familial aggregation of blood pressure in 558 adopted children. *Can Med Assoc J* 1976; 115:773-774.

⁶³Biron P, Mongeau JG. Familial aggregation of blood pressure and its components. *Pediatr Clin* 1978;25:29-33.

⁶⁴Annest JL, Sing CF, Biron P, Mongeau JG. Familial aggregation of blood pressure and weight in adoptive families. I. Comparisons of blood pressure and weight statistics among families with adopted, natural or both natural and adopted children. *Am J Epidemiol* 1979;110:479-491.

⁶⁵Annest JL, Sing CF, Biron P, Mongeau JG. Familial aggregation of blood pressure and weight in adoptive families. II. Estimation of the relative contributions of genetic and common environmental factors to blood pressure correlations between family members. *Am J Epidemiol* 1979; 110:492-503.

⁶⁶Stocks P. A biometric investigation of twins and their brothers and sisters. *Ann Eugen* 1930;4:49-62.

⁶⁷McHany ML, Shaffer JW, Hines EA. The heritability of blood pressure: an investigation of 200 twin pairs using the cold pressure test. *Johns Hopkins Med J* 1975; 136:57-74.

⁶⁸Havlik RJ, Garrison RJ, Katz SH, Ellison RC, Feinlieb M, Myriantopoulos NC. Detection of genetic variance in blood pressure of seven-year-old twins. *Am J Epidemiol* 1979; 109:512-516.

⁶⁹Feinlieb M, Garrison RJ, Fabsitz R, et al. The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results, 1977. *Am J Epidemiol* 1977;106:284-295.

⁷⁰Sing CF, Boerwinkle E, Turner ST. Genetics of primary hypertension. *Clin Exp Hypertens [A]* 1986;A8:623-651.

⁷¹Sing CF, Boerwinkle E. The genetics of blood pressure variability: an overview. In: Filer LJ, Lauer RM, eds. *Children's blood pressure*. Columbus, OH: Ross Laboratories, 1985;35-3.

⁷²Corey LA, Eaves U, Mellen BG, et al. Testing for developmental changes in gene expression on resemblance for quantitative traits in kinships of twins: application to height, weight and blood pressure. *Genet Epidemiol* 1986;3:73-83.

⁷³Clarke WR, Schrott HG, Leaverton PE, Connor WE, Lauer RM. Tracking of blood pressures in school age children. The Muscatine Study. *Circulation* 1978; 58:626-634.

⁷⁴Liddle GW, Bledsoe WT, Coppage WS. A familial renal disorder simulating primary aldosteronism but with negligible aldosterone secretion. *Trans Assoc Am Physicians* 1963; 76:199-213.

⁷⁵Canessa CM, Schild L, Buell G, et al. Amiloride-sensitive epithelial Na⁺ channel is made of three homologous subunits. *Nature* 1994;367:463-467.

⁷⁶Shimkets RA, Warnock DJ, Bositis CM, et al. Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutation in the β subunit of the epithelial sodium channel. *Cell* 1994;79:407-414.

⁷⁷Hansson NI, Nelson-Williams C, Suzuki H, et al. Hypertension caused by a truncated epithelial sodium channel γ subunit: genetic heterogeneity of Liddle's syndrome. *Nature Genet* 1995;11:76-82.

⁷⁸Botero-Velez M, Curtis JJ, Warnock DG. Liddle's syndrome revisited - a disorder of sodium transport in the distal tubule. *N Eng J Med* 1994;330:178-181.

⁷⁹Schild L, Canessa CM, Schimkets Ra, et al. A mutation in the epithelial sodium channel causing Liddle's disease increases channel activity in the *Xenopus* oocyte expression system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:5699-5703.

⁸⁰Sutherland DJA, Ruse JL, Laidlaw JC. Hypertension, increased aldosterone secretion and low plasma renin activity relieved by dexamethasone. *Can Med J Assoc* 1966;95:1109-1119.

⁸¹Lifton RP, Dluhy RG, Powers M et al. A chimaeric 11 β -hydroxylase-aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension. *Nature* 1992;355:262-265.

⁸²Pascoe L, Curnow KM, Slutsker L, et al. Glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism results from hybrid genes created by unequal crossovers between CYP11 β 1 and CYP11 β 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:8327-8331.

⁸³Werder E, Zachmann M, Vollmin JA, et al. Unusual steroid excretion in a child with low-renin hypertension. *Res Steroids* 1974; 6: 385-89.

⁸⁴Shackleton CHL, Stewart PM. The hypertension of apparent mineralocorticoid excess (AME) syndrome. In: Biglieri EG, Melby JC, eds. Endocrine hypertension. New York: Raven Press, 1990; 155-173.

⁸⁵Ulick S, Levine LS, Gunczler P, et al. A syndrome of apparent mineralocorticoid excess associated with defects in the peripheral metabolism of cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49: 757-764.

⁸⁶Monder C, White PC. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Vitam Horm* 1993;47: 187-271.

⁸⁷Arriza JL, Weinberger C, Cerelli G, et al. Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. *Science* 1987; 237: 268-275.

⁸⁸Edwards CRW, Stewart PM, Burt D, et al. Localisation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor. *Lancet* 1988; ii: 986-989.

⁸⁹Funder JW, Pearce PT, Smith R, Smith AI. Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. *Science* 1988;242: 583-585.

⁹⁰Stewart PM, Krozowski ZS, Gupta A, et al. Hypertension in the syndrome of apparent mineralcorticoid excess due to mutation of the 11 β -hydrogenase type 2 gene. *Lancet* 1996;347:88-91.

⁹¹Williams RR, Hunt SC, Hasstedt SJ, et al. Current knowledge regarding the genetics of human hypertension. *J Hypertens* 1989; 7(suppl 7):S8-S13.

⁹²Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevstev YV. et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71:169-180.

⁹³Cauldfield M, Lavender P, Farrar M, et al. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. *N Eng J Med* 1994; 330:1629-1633.

⁹⁴Nadaud S, Bonnardeaux A, Lathrop GM, Soubrier F. Gene structure, polymorphism and mapping of the human endothelial nitric oxide synthase gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;198:1027-1033.

⁹⁵Bonnardeaux A, Nadaud S, Charru A, Jeunemaitre X, Corvol P, Soubrier F. Lack of evidence for linkage of the endothelial cell nitric oxide synthase gene to essential hypertension. *Circulation* 1995;91:69-102.

⁹⁶Berry TD, Hasstedt SJ, Hunt SC, et al.: A gene for high urinary kallikrein may protect against hypertension in Utah kindreds. *Hypertension* 1989, 13:3-8.

⁹⁷Hasstedt SJ, Wu LL, Ash KO, Kuida H, Williams RR: Hypertension and sodium-lithium countertransport in Utah pedigrees: evidence for major locus inheritance. *Am J Hum Genet* 1988, 43:14-22.

⁹⁸Williams RR, Hunt SC, Wu LL, Hasstedt SJ, Hopkins PN, Ash KO: Genetic and epidemiological studies on electrolyte transport systems in hypertension. *Clin Physiol Biochem* 1988, 6:136-149.

⁹⁹Williams RR, Hasstedt SJ, Hunt SC, Wu LL, Ash KO: Genetic studies of cation tests and hypertension. *Hypertension* 1987, 10 (suppl 1):137-141.

¹⁰⁰Williams PT, Fortmann SP, Terry RB, et al.: Associations of dietary fat, regional adiposity, and blood pressure in men. *JAMA* 1987, 257:3251-3256.

¹⁰¹Iverius PH, Brunzell JD: Obesity and common genetic metabolic disorders. *Ann Intern Med* 1985, 103:1050-1051.

¹⁰²Hunt SC, Wu LL, Hopkins PN, et al.: Apolipoprotein low density lipoprotein subtraction, and insulin associations with familial combined hyperlipidemia: study of Utah patients with familial dyslipidemic hypertension. *Arteriosclerosis* 1989, 9:335-344.

¹⁰³Fuh MM-T, Shieh S-M, Wu D-A, et al.: Abnormalities of carbohydrate and lipid metabolism in patients with hypertension. *Arch Intern Med* 1987, 147:1035-1038.

¹⁰⁴Zavaroni I, Bonora E, Pagllara M, et al.: Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucose tolerance. *N Engl J Med* 1989, 320:702-706.

¹⁰⁵Marigliano A, Sechi LA, Pala A, Tedde R: Hyperinsulinemia and cellular genetic markers of essential hypertension in impaired glucose metabolism. In Abstracts, Fourth European Meeting on Hypertension, Milan, Italy 18th-21st June, 1989. Milan: Università degli Studi di Milano, Ricerca Scientifica ed Educazione Permanente, Supplemento 76, 1989, abstract 540.

¹⁰⁶Olefsky JM, Garvey WT, Henry RR, Brillon D, Matthahei S, Freidenberg GR. Cellular mechanisms of insulin resistance in non-insulin-dependent (type II) diabetes. *Am J Med* 1988;85(suppl 5A):86-105.

¹⁰⁷Foster DW. Insulin resistance. A secret killer? *N Engl J Med* 1989;320:733-734.

¹⁰⁸ Welborn TA, Breckenridge A, Rubinstein AM, Dollery CT, Fraser TR, Serum insulin in essential hypertension and peripheral vascular disease. *Lancet* 1966;i:1336-1337

¹⁰⁹ Modan M, Halkin H, Almog S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, Chetrit A, Fuchs F. Hyperinsulinemia: a link between hypertension obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest* 1985;75:809-817.

¹¹⁰ Saad MF, Lillioja S, Nyomba BL, Castillo C, Ferraro R, DeGregorio M, Ravussin E, Knowler WC, Bennet PH, Howard BV, Bogardus C. Racial differences in the relation between blood pressure and insulin resistance. *N Eng J Med* 1991;324:733-739.

¹¹¹ Burchfiel CM, Curb JD, Sharp DS, Rodriguez BL, Arakaki R, Chyou PH, Yano K. Distribution and correlates of insulin in elderly men. The Honolulu Heart Program. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995;15:2213-2221.

¹¹² Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Michell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin resistance syndrome (Syndrome X). *Diabetes* 1992;41:715-722.

¹¹³ Ferrannini E, Buzzigoli C, Bonadonna R, Giorico MA, Oleggini M, Graziadei L, Pedrinelli R, Brandi L, Bevilacqua S. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med* 1987;317:350-357.

¹¹⁴ Shen DC, Shieh SM, Fuh MMT, Wu DA, Chen YDI, Reaven GM. Resistance to insulin-stimulated glucose uptake in patients with hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66:580-583.

¹¹⁵ Swislocki ALM, Hoffman BB, Reaven GM. Insulin Resistance, Glucose intolerance and hyperinsulinemia in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 1989;2:419-423.

¹¹⁶ Zavaroni I, Mazza S, Dall'Aglio E, Gasparini P, Passeri M, Reaven GM. prevalence of hyperinsulinaemia in patients with high blood pressure. *J Intern Med* 1992;231:235-240.

¹¹⁷ Pollare T, Lithell H, Berne C. Insulin resistance is a characteristic feature of primary hypertension independent of obesity. *Metabolism* 1990;39:167-174.

¹¹⁸ Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607.

¹¹⁹ Lind L, Lithell H, Pollare T. Is it hyperinsulinemia or insulin resistance that is related to hypertension and other metabolic cardiovascular risk factors? *J Hypertens* 1993;11(suppl 4):S11-S16.

¹²⁰ Natali A, Santoro D, Palombo C, Cern M, Chione S, Ferrannini E. Impaired insulin action on skeletal muscle metabolism in essential hypertension. *Hypertension* 1991;17:170-178.

¹²¹ Lillioja S, Mott DM, Zawadzki 1K, Young AA, Abbot WGII, Kwoler WC, Bennett PH, Moll P, Bogardus C. In vivo insulin action is familial characteristic in Pima Indians. *Diabetes* 1987;36:1329-1335.

¹²² Salvatore T, Cozzolino D, Giunta R, Giugliano D, Torella R, D'Onofrio F. Decreased insulin clearance as a feature of essential hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:144-149.

¹²³ Laakso M, Sarlund H, Mykkänen I. Essential hypertension and insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes. *Eur J Clin Invest* 1989; 19:518-526.

¹²⁴ Bergman RM, Finegood DT, Ader M. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocrinol Rev.* 1985;6:45-86.

¹²⁵ Greene AS, Tonellato P1, Lui I, Lombard 111, Cowley AW Jr. Microvascular rarefaction and tissue vascular resistance in tension. *Am J Physiol* 1989;256:H126-H131.

¹²⁶ Edgerton VR, Smith IL, Simpson DR. Muscle fiber type populations of human leg muscles. *Histochem J* 1975;7:259-266.

¹²⁷ Weinsier RL, Norris DI, Birch R, Bernstein RS, Wang J, Yang MU, Pierson RN Jr, Van Itallie TB. The relative contribution of body fat and fat pattern to blood pressure level. *Hypertension* 1985;7:578-585.

¹²⁸ Ferrannini E. Insulin and blood pressure: possible role of hemodynamics. *Clin Exp Hypertens* 1992;A 14(1&2):27 1-284.

¹²⁹ Raison JM, Safar ME, Cambien F, London CM. Forearm haemodynamics in obese normotensive and hypertensive subjects. *J Hypertens* 1988;6:299-303.

¹³⁰ Juhlin-Dannfelt A, Frisk-Holmberg M, Karlsson I, Tesch P. Central and peripheral circulation in relation to muscle-fibre composition in normo- and hyper-tensive man. *Clin Sci* 1979;56:335-340.

¹³¹ Lillioja S, Young AA, Cutter CL, Ivy JL, Abbott WGH, Zawadski JK, Yki-Jarvinen H, Christin L, Secomb TW, Bogardus C. Skeletal muscle capillary

density and fiber type are possible determinants of in vivo insulin resistance in man. *J Clin Invest* 1987; 80:415-424.

¹³² Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD. Decreased effect of insulin to stimulate skeletal muscle blood flow in obese man: a novel mechanism for insulin resistance. *J Clin Invest* 1990;85:1844-1852.

¹³³ Baron AD, Laakso M, Brechtel G, Edelman SV. Mechanism of insulin resistance in insulin-dependent diabetes mellitus: a major role for reduced skeletal muscle blood flow. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:637-643.

¹³⁴ Laakso M, Edelman S, Brechtel G, Baron AD. Impaired insulin mediated skeletal muscle blood flow in patients with NIDDM. *Diabetes* 1992;41:1076-1083.

¹³⁵ Baron AD. Cardiovascular actions of insulin in humans. Implications for insulin sensitivity and vascular tone. In Ferrannini E. ed. *Insulin resistance and disease*. Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. London: Bailliere Tindall 1993; 7(4):96 1-988.

¹³⁶ Natali A, Bonadonna R, Santoro D, Quiñones Galvan A, Baldi S, Frascerra S, Palombo C, Ghione S, Ferrannini E. Insulin resistance and vasodilation in

essential hypertension: studies with adenosine. *J Clin Invest* . 1994; 4:1570-1576.

¹³⁷ DeFronzo RA, Felig P, Ferrannini E, Wahren J. Effect of graded doses of insulin on splanchnic and peripheral potassium metabolism in man. *Am J Physiol* 1980; 238:E421-E427.

¹³⁸ Andres R, Baltzan M, Cader G, Zierler K. Effects of insulin on carbohydrate metabolism and on potassium in the forearm of man. *J Clin invest* 1962;41:108-115.

¹³⁹ Ferrannini E, Taddei S, Santoro D, Natali A, Boni C, Del Chiaro D, Buzzigoli G. Independent stimulation of glucose metabolism and $\text{Na}^+\text{-K}^+$ exchange by insulin in the human forearm. *Am J Physiol* 1988;255:E953-E958.

¹⁴⁰ DeFronzo RA, Cooke CR, Andres R, Faloona GR, Davis PJ. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. *J Clin Invest* 1975; 55:845-855.

¹⁴¹ Trovati M, Massucco P, Anfosti G, Cavalot F, Mularoni E, Mattiello L, Rocca G, Emanuelli G. Insulin influences the renin-angiotensin-aldosterone system in humans. *Metabolism* 1989; 38:501-503.

¹⁴² Conn JW. Hypertension, the potassium ion and impaired carbohydrate tolerance. *N Engl J Med* 1965;273:1135-1143.

¹⁴³ Gorden P. Glucose intolerance with hypokalemia. *Diabetes* 1973;22:544-551.

¹⁴⁴ Rowe JW, Tobin JD, Rosa RM, Andres R. Effect of experimental potassium deficiency on glucose and insulin metabolism. *Metabolism* 1980;29:498-502.

¹⁴⁵ Helderman JH, Elahi D, Andersen DK, Raizes GS, Tobin ID, Shockey D, Andres R. Prevention of the glucose intolerance of thiazide diuretics by maintenance of body potassium. *Diabetes* 1983;32:106-111.

¹⁴⁶ Beretta-Piccoli C, Davies DL, Boddy K, Brown JJ, Cumming AMM, East BW, Fraser R, Lever AF, Padfield PL, Semple PF, Robertson JI, Weidmann P, Williams ED. Relation of arterial pressure with body sodium, body potassium and plasma potassium in essential hypertension. *Clin Sci* 1982;63:257-270.

¹⁴⁷ Khaw K-T, Barrett-Connor E. The association between blood pressure, age, and dietary sodium and potassium: a population study. *Circulation* 1988;77:53-61.

-
- ¹⁴⁸ Skott P, Hother-Nielsen O, Bruun NE. Effects of insulin on kidney function and sodium excretion, in healthy subjects. *Diabetologia* 1989;32:694-699.
- ¹⁴⁹ Rowe JR, Young JB, Minaker KL, Stevens AL, Pallotta J, Landsberg L. Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nervous system activity in normal man. *Diabetes* 1981;30:219-225.
- ¹⁵⁰ Gans ROB, vd Toorn L, Bilo HJG. Renal and cardiovascular effects of exogenous insulin in healthy volunteers. *Clin Sci* 1991;80:219-225.
- ¹⁵¹ Anderson EA, Hoffman RP, Balon TW, Sinkley CA, Mark AL. Hyperinsulinemia produces both sympathetic neuronal activation and vasodilation in normal humans. *J Clin Invest* 1991;87:2246-2252.
- ¹⁵² Olefsky JM, Reaven GM, Farquhar JW. Effect of weight reduction on obesity: studies of carbohydrate and lipid metabolism. *J Clin Invest* 1974;53:64-76.
- ¹⁵³ Rocchini AP, Key J, Bondie D. The effect of weight loss on the sensitivity of blood pressure to sodium in obese adolescents. *N Engl J Med* 1989;321:580-585.

¹⁵⁴ Sharma AM, Ruland K, Spies KP. Salt sensitivity in young normotensive subjects is associated with a hyperinsulinemic response to oral glucose. *J Hypertens* 1991;9:329-335.

¹⁵⁵ Landsberg L. Insulin as a regulator of sympathetic nervous system activity. In: Smith U, Bruun NE, Hedner T, Hökfelt B. eds. Hypertension as an insulin-resistant disorder. Amsterdam: Excerpta Medica International Congress Series 980. 1991:133-146.

¹⁵⁶ Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities - The role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Eng J Med* 1996;334(6):374-381.

¹⁵⁷ Kannel WB, Brand N, Skinner JJ, Jr, Dawber TR, McNamara PM. Relation of adiposity to blood pressure and development of hypertension: the Framingham study. *Ann Intern Med* 1967;67:48-59.

¹⁵⁸ Julius S, Krause L, Schork N. Hyperkinetic borderline hypertension in Tecumseh, Michigan. *J Hypertens* 1991;9:77-84.

¹⁵⁹ Julius S. The interconnection between sympathetics, microcirculation, and insulin resistance in hypertension. *Blood Pressure* 1992; 1:9-19.

¹⁶⁰ Anderson EA, Christine AS, Lawton WJ, Mark AL. Elevated sympathetic nerve activity in borderline hypertensive humans. *Hypertension* 1989; 14:177-183.

¹⁶¹ Yamada Y, Miyajima E, Tochikubo O, Matsukawa T, Ishii M. Age-related changes in muscle sympathetic nerve activity in essential hypertension. *Hypertension* 1989;13:870-877.

¹⁶² Matsukawa T, Mano T, Ishii M. Elevated sympathetic nerve activity in patients with accelerated essential hypertension. *J Clin Invest* 1993;92:25-28.

¹⁶³ Floras JS, Hara K. Sympathoneural and haemodynamic characteristics of young subjects with mild essential hypertension. *J Hypertens* 1993;11:647-655.

¹⁶⁴ Lembo C, Napoli R, Capaldo B, Redina V, Iaccarino C, Volpe M, Trimarco B, Saccá L. Abnormal sympathetic overactivity evoked by insulin in the skeletal muscle of patients with essential hypertension. *J Clin Invest* 1992;90:24-29.

¹⁶⁵ Lasker N, Aviv A. A common cellular pathway for insulin resistance in essential hypertension and NIDDM. In: Smith U, Bruun NE, Hedner T, Hökfelt B, eds. *Hypertension as an insulin resistant disorder*. Amsterdam: Excerpta Medica International Congress Series 980, 1991;147-154.

¹⁶⁶ Rasmussen H. Calcium and c-AMP as synarchic messengers. New York: John Wiley. 1981.

¹⁶⁷ Draznin B, Reusch J, Begum N, Sussman K, Byyny R, Ohara T. Calcium, insulin action and insulin resistance. In: Smith U, Bruun NE, Hedner T, Hökfelt B, eds. Hypertension as an insulin resistant disorder. Amsterdam: Excerpta Medica International Congress Series 980, 1991; 225-245.

¹⁶⁸ Tatemoto K, Efendic S, Mutt V, Makk G, Feistner GJ, Barchas JC. Pancreastatin, a novel pancreatic peptide that inhibits insulin secretion. *Nature* 1986; 324: 476-478.

¹⁶⁹ Schmidt WE, Creutzfeldt W. Pancreastatin: A novel regulatory peptide? *Acta Oncologica* 1991;30: 441-449.

¹⁷⁰ Eiden LE. Is chromogranin A a prohormone? *Nature* 1987;325: 301.

¹⁷¹ Huttner WB, Benedum UM. Chromogranin A and pancreastatin. *Nature* 1987;325: 305.

¹⁷² Iancangelo AL, Affolter HU, Eiden LE, Herbert E, Grimes M. Bovine chromogranin A sequence and distribution of its messenger RNA in endocrine tissues. *Nature* 1986;323: 82-86.

¹⁷³Iancangelo AL, Fischer-Colbrie R, Koller KJ, Brownstein MJ, Eiden LE. The sequence of porcine chromogranin A messenger RNA demonstrates chromogranin A can serve as the precursor for the biologically active hormone pancreastatin. *Endocrinology* 1988;122: 2339-2341

¹⁷⁴Konecki DS, Benedum UM, Gerdes HH, Huttner WB. The primary structure of human chromogranin A and pancreastatin. *J Biol Chem* 1987;262: 17026-17030.

¹⁷⁵Helman LJ, Ahn TG, Levine MA, Allison A, Cohen PS, Cooper MJ, Cohn DV, Israel MA. Molecular cloning and primary structure of human chromogranin A (secretory protein 1) cDNA. *J Biol Chem*, 1988; 263 :11559-11563.

¹⁷⁶Sánchez-Margalet V, Goberna R. Pancreastatin inhibits insulin-stimulated glycogen synthesis but not glycolysis in rat hepatocytes. *Regul Peptides* 1994;51:215-220.

¹⁷⁷Sánchez-Margalet V, Goberna R. Pancreastatin, a new peptide associated to hypertension and hyperinsulinemia. *Biologie Prospective*, 1993; 575-580. 8^e Colloquie de Pont à Mousson. Ed MM Galteau, G Siest & J Henny. John Libbey Eurotext.

¹⁷⁸Nakano I, Funakoshi A, Miyasaka K, Ishida K, Makk G, Angwin P, Chang D, Tatemoto K. Isolation and characterization of bovine pancreastatin. *Regul Peptides* 1989;25: 207-213.

¹⁷⁹Hutton JC, Nielsen E, Kastern W. The molecular cloning of the chromogranin A-like precursor of β -granin and pancreastatin from the endocrine pancreas. *FEBS Letters* 1988;236: 269-274.

¹⁸⁰Iancangelo AL, Okayama H, Eiden LE. Primary structure of rat chromogranin A and distribution of its mRNA. *FEBS Letters* 1988;227: 115-121.

¹⁸¹Parmer RJ, Koop AH, Handa MT, O'Connor DT. Molecular cloning of chromogranin A from rat pheochromocytoma cells. *Hypertension* 1989;14: 435-444.

¹⁸²Aboud ME, Eberwine JH. Characterization and regulation of a cDNA clone for rat pancreastatin. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;167:1079-1085.

¹⁸³Schmidt WE, Sieget EG, Kratzin, Creutzfeldt W. Isolation and primary structure of tumor-derived peptides related to human pancreastatin and chromogranin A. *Proc Nat Acad Sci USA* 1988;85:8231-8235.

¹⁸⁴Sekiya K, Ghatei MA, Minamino N, Bretherton-Watt D, Matsuo H, Bloom SR. Isolation of human pancreastatin fragment containing the active sequence from a glucagonoma. *FEBS Letters* 1988;228:153-156.

¹⁸⁵Funakoshi S, Tamamura H, Ohta M, Yoshizawa K, Funakoshi A, Miyasaka K, Tateishi K, Tatemoto K, Nakano I, Yajima H, Fitzii N. Isolation and characterization of a tumor-derived human pancreastatin-related protein. *Biochem Bioph Res Co* 1989;164:141-148.

¹⁸⁶Tamamura H, Ohta M, Yoshizawa K, Ono Y. Isolation and characterization of a tumor-derived human protein related to chromogranin-A and its in vitro conversion to human pancreastatin-48. *Eur J Biochem* 1990;191:33-39.

¹⁸⁷Watkinson G, Rogers M, Dockray A. Post-translational processing of chromogranin A: differential distribution of phosphorylated variants of pancreastatin and fragments 248-313 and 297-313 in bovine pancreas and ileum. *Biochem J* 1993;295:649-654.

¹⁸⁸Kitayama N, Tateishi K, Funakoshi A, Miyasaka K, Shimazoe T, Kono A, Iwamoto N, Matsuoka Y. Pancreastatin molecular forms in normal human plasma. *Life Sci* 1994;54:1571-1578.

¹⁸⁸Simon JP, Aunis D. Biochemistry of the chromogranin A family. *Biochem J* 1989;262:1-13.

¹⁹⁰O'Connor DT, Frigon RP. Chromogranin A, the major catecholamine storage vesicle soluble protein. *J Biol Chem* 1984; 259:3237-3247.

¹⁹¹Mouland AJ, Bevan S, White JH, Hendy GN. Human chromogranin A gene - Molecular cloning, structural analysis and neuroendocrine cell-specific expression. *J Biol Chem* 1994;269: 6919-6926.

¹⁹²Kar S, Bretherton-Watt D, Gibson SJ, Steel JH, Gentleman SM, Roberts GW, Valentino K, Tatemoto K, Ghatei MA, Bloom SR, Polak JM. Novel peptide pancreastatin: its occurrence and codistribution with chromogranin A in the central nervous system of the pig. *J Comp Neurol* 1989;288: 627-639

¹⁹³Settleman J, Fonseca R, Nolan J, Hogue-Angeletti R. Relationship of multiple forms of chromogranin. *J Biol Chem* 1985 ;260:1645-1651.

¹⁹⁴Iancangelo AL, Grimes M, Eiden LE. The bovine chromogranin A gene-structural basis for hormone regulation and generation of biologically active peptides. *Mol Endocrinol* 1991;5:1651-1660.

¹⁹⁵Wu HJ, Rozansky DJ, Parmer RJ, Gill BM, O'Connor DT. Structure and function of the chromogranin A gene. *J Biol Chem* 1991;266:13130-13134.

¹⁹⁶Winkler H, Fischer-Colbric R. The chromogranin-A and chromogranin-B - the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992; 49:497-528.

¹⁹⁷Watkinson A, Jonsson AC, Davison M, Young J, Lee CM, Moore S, Dockray GJ. Heterogeneity of chromogranin A-derived peptides in bovine gut, pancreas and adrenal medulla. *Biochem J* 1991;276:471-479.

¹⁹⁸Börglum-Jensen TD, Holst JJ, Fahrenkrug J. Secretion of pancreastatins from the porcine digestive tract. *Scand J Gastroentero* 1994;29:376-384.

¹⁹⁹Ravazzola M, Efendic S, Östenson CG, Tatemoto K, Hutton JC, Orci L. Localization of pancreastatin immunoreactivity in porcine endocrine cells. *Endocrinology* 1988;123:227-229.

²⁰⁰Curry WJ, Johnston CF, Shaw, Buchanan KD. Distribution and partial characterization of immunoreactivity to the putative C-terminus of rat pancreastatin. *Regul Peptides* 1990;30:207-219.

²⁰¹Lamberts R, Schmidt WE, Creutzfeldt W. Light and electron microscopical immunocytochemical localization of pancreastatin-like immunoreactivity in porcine tissues. *Histochemistry* 1990;93: 369-380.

²⁰²Arden SD, Rutherford NG, Guest PC, Curry WJ, Bailyes EM, Johnston CF, Hutton JC. The post-translational processing of chromogranin A in the pancreatic islet: involvement of the eukaryote subtilisin PC2. *Biochem J* 1994;298:521-528.

²⁰³Simon JP, Bader MF, Aunis D. Proteolytic processing of CGA in cultured chromaffin cells. *Biochim Biophys Acta* 1989;1051:123-130.

²⁰⁴Watkinson A, O'Sullivan A, Burgoyne R, Dockray C. Differential accumulation of catecholamines, proenkephalin and CGA-derived peptides in the medium after chronic nicotine stimulation of cultured bovine adrenal chromaffin cells. *Peptides* 1990;11:435-441.

²⁰⁵Metz-Boutigue MH, Garcia-Sablone P, Hoghe-Angeletti R, Aunis D. Intracellular and extracellular processing of chromogranin A. Determination of cleavage sites. *Eur J Biochem* 1993;217: 247-257.

²⁰⁶Leduc R, Hendy GN, Seidah NG, Chrétien M, Lazure C. Fragmentation of bovine chromogranin A by plasma kallikrein. *Life Sci* 1990;46:1427-1433.

²⁰⁷Bretherton-Watt D, Valentino KL, Tatemoto K, Roth K, Polak JM & Bloom SR
1988 Pancreastatin distribution and plasma levels in the pig. *Peptides* 9 1005-
1014.

²⁰⁸Ostenson CG, Efendic S, Holst JJ. Pancreastatin-like immunoreactivity and
insulin are released in parallel from the perfused porcine pancreas.
Endocrinology 1989;124: 2986-2990.

²⁰⁹Funakoshi A, Tateishi K, Shinozaki H, Miyasaka K, Ito T, Wakasugi H.
Plasma pancreastatin responses after intrajejunal infusion of liquid meal in
patients with chronic pancreatitis. *Digest Dis Sci* 1990;34 :721-725.

²¹⁰Funakoshi A, Tateishi K, Tsuru M, Jimi A, Wakasugi H, Ikeda Y, Kono A.
Pancreastatin producing cell line from human pancreatic islet cell tumor.
Biochem Bioph Res Co 1990;168: 741-746.

²¹¹Funakoshi A, Tateishi K, Kitayama N, Jimi A, Matsuoka Y, Kono A. Parallel
secretion of PST and somatostatin from human pancreastatin producing cell
line (QGP-IN). *Pancreas* 1993;8: 375-382.

²¹²Funakoshi A, Tateishi K, Tsuru M, Jimi A, Wakasugi H, Kono A.
Acetylcholine regulates pancreastatin secretion from the human pancreastatin-
producing cell line (QGP-1 N). *J Clin Endocr Metab* 1991;73:151-155.

²¹³Funakoshi A, Tateishi K, Tsuru M, Kono A. Pertussis-toxin nonsensitive G-protein mediates cholinergic stimulation for secretion of pancreastatin and somatostatin from QGP-1 N cells. *Reg Peptides* 1992;37: 1-7.

²¹⁴Tateishi K, Funakoshi A, Kitayama N, Matsuoka Y. Interaction between phosphoinositide turnover and cyclic AMP pathway for the secretion of pancreastatin and somatostatin from QGP-1N cells. *Biochem Biophys Res Co* 1992;185:1041-1047.

²¹⁵Funakoshi A, Tateishi K, Shinozaki H, Matsumoto M, Wakasugi H. Elevated plasma levels of pancreastatin (PST) in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Reg Peptides* 1990;30:159-164.

²¹⁶Sánchez-Margalet V, Valle M, Lobón JA, Maldonado A, Escobar F, Oliván J, Perez-Cano R, Goberna R. Increased plasma pancreastatin-like immunoreactivity levels in non-obese patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1995;13 :251-258.

²¹⁷Tateishi K, Funakoshi A, Shinozaki H, Wakasugi H, Iguchi H, Shinozaki H, Abe M, Funakoshi S, Tamamura H, Yajima H, Matsuoka Y. Plasma pancreastatin-like immunoreactivity in various diseases. *J Clin Endocr Metab* 1989; 69: 1305-1308.

²¹⁸Tateishi K, Funakoshi A, Hashimoto K, Kitayama N, Matsuoka Y. Degradation of human pancreastatin-52 by human kidney extract. *Life Sci* 1992;50: 607-613.

²¹⁹Tateishi K, Miyasaka K, Shinozaki M, Funakoshi S, Matsuoka Y, Funakoshi A. Pancreastatin-like immunoreactivity in urine. *J Clin Endocr Metab* 1990;71: 812-815.

²²⁰Efendic S, Tatemoto K, Nlutt V, Quan C, Chang D, Östenson CG. Pancreastatin and islet hormone release. *Proc Nat Acad Sci USA* 1987;84:7257-7260.

²²¹Sánchez-Margalet V, Goberna R. Pancreastatin (33-49) enhances the priming effect of glucose in the rat pancreas. *Experientia* 1993 ;49: 551-552.

²²²Ishizuka J, Singh P, Greeley GH Jr, Towsenct CM JR, Cooper CW, Tatemoto K, Thompson JC. A comparison of the insulinotropic and the insulin-inhibitory actions of gut peptides on newborn and adult rat islet cells. *Pancreas* 1988;3: 77-82.

²²³Sánchez-Margalet V, Lucas M, Goberna R. Pancreastatin increases cytosolic Ca^{2+} in insulin secreting RIN m5F cells. *Mol Cell Endocrinol* 1992;88:129-133.

²²⁴Peiró E, Dégano P, Miralles P, Silvestre RA, Marco J. Homologous pancreastatin inhibits insulin secretion without affecting glucagon and somatostatin release in the perfused rat pancreas. *Reg Pepides* 1991;34:159-167.

²²⁵Silvestre RA, Peiró E, Miralles P, Villanueva ML, Marco J. Effects of pancreastatin on insulin, glucagon and somatostatin secretion by the perfused rat pancreas. *Life Sci* 1988;42:1361-1367.

²²⁶Ostenson CG, Sandler S, Efendic S. Effects of porcine pancreastatin on secretion and biosynthesis of insulin and glucose oxidation of isolated rat pancreatic islets. *Pancreas* 1989;4: 441-446.

²²⁷Lorinet AM, Tatemoto K, Labtirthe M, Amiranoff B. Pancreastatin inhibits insulin release from RIN m 5F cells: reversion by pertussis toxin. *Eur J Pharmacol* 1989;160:405-407.

²²⁸Sánchez-Margalet V, Calvo JR, Lucas M, Goberna R. Pancreastatin and its 33-49 C-terminal fragment inhibit glucagon-stimulated insulin in vivo. *Gen Pharmacol* 1992;23:637-638.

²²⁹Funakoshi A, Miyasaka K, Kitani K, Tatemoto K. Effect of pancreastatin on pancreatic endocrine function in the conscious rat. *Reg Peptides* 1989;24: 225-231.

²³⁰Funakoshi A, Miyasaka K, Kitani K, Tamamura H, Funakoshi S, Yajima H. Bioactivity of synthetic C-terminal fragment of rat pancreastatin on endocrine pancreas. *Biochem Biophys Res Co* 1989;158: 844-849.

²³¹Ohneda A, Koizumi F, Ohneda M. Effect of porcine pancreastatin on endocrine function of canine pancreas. *Tohoku J Exp Med* 1989;159: 291-298.

²³²Inui A, Okita M, Inoue T, Sakatani N, Oya M, Morioka H, Oimomi M, Tatemoto K, Baba S. Effects of pancreastatin on insulin and pancreatic polypeptide secretion in the dog. *Endocrinologia Japonica* 1989;36: 733-738.

²³³Holst JJ, Östenson GG, Harling H, Messell T. Porcine pancreastatin has no effect on endocrine secretion from the pig pancreas. *Diabetologia* 1990;33: 403-406.

²³⁴Ahren B, Lindskog S, Tatemoto K, Efendic S. Pancreastatin inhibits insulin secretion and stimulates glucagon secretion in mice. *Diabetes* 1988;37:281-285.

²³⁵Miyasaka K, Funakoshi A, Nakamura R, Kitani K, Shimizu F, Tatemoto K. Effects of porcine pancreastatin on postprandial pancreatic exocrine secretion and endocrine functions in the conscious rat. *Digestion* 1989;43: 204-211.

²³⁶Miyasaka K, Funakoshi A, Kitani K, Tamamura H, Fujii N, Funakoshi S. The importance of the C-terminal amide structure of rat pancreastatin to inhibit pancreatic exocrine secretion. *FEBS Letters* 1990;263:279-290.

²³⁷Miyasaka K, Funakoshi A, Yasunami Y, Nakamura R, Kitani K, Tamamura H, Funakoshi S, Fujii N. Rat pancreastatin inhibits both pancreatic exocrine secretion and endocrine secretions in rats, *Regul Peptides* 1990;28:189-198.

²³⁸Miyasaka K, Funakoshi A, Kitani K, Tamamura H, Funakoshi S, Fujii N. Inhibitory effect of pancreastatin on pancreatic exocrine secretion - pancreastatin inhibits central vagal nerve stimulation. *Gastroenterology*, 1990;99:1751-1756.

²³⁹Ishizuka J, Asadan 1, Poston G-J, Lluís F, Tatemoto K, Greeley H Jr, Thompson JC. Effect of pancreastatin on pancreatic endocrine and exocrine secretion. *Pancreas* 1989;4: 277-281.

²⁴⁰Funakoshi A, Miyasaka K, Nakamura R, Kitani K, Tatemoto K. Inhibitory effect of pancreastatin on pancreatic exocrine secretion in the conscious rat. *Regul Peptides* 1989; 25:157-166.

²⁴¹Herzig KH, Louie DS, Tatemoto K, Chung OY. Pancreastatin inhibits pancreatic enzyme secretion by presynaptic modulation of acetylcholine release. *Am J Physiol* 1992; 262: G113-G117.

²⁴²Von Schonfeld J, Muller MK, Runzi M, Geling M, Neisius I, Kleimann J, Goebell H. Pancreastatin - a mediator in the islet-acinar axis? *Metabolism* 1993;42 :552-555.

²⁴³Lewis JJ, Zdon MJ, Adrian TE, Modlin IM. Pancreastatin: a novel peptide inhibitor of parietal cell secretion. *Surgery* 1988; 104: 1031-1036.

²⁴⁴Hashimoto T, Kogire M, Lluís F, Gomez G, Tatemoto K, Greeley GH Jr, Thompson JC. Stimulatory effect of pancreastatin on gastric acid secretion in conscious dogs. *Gastroenterology* 1990; 99 :61-65.

²⁴⁵Fasciotto BH, Gorr SU, DeFranco DJ, Levine MA, Cohn DV. Pancreastatin, a presumed product of chromogranin A (secretory protein 1) processing, inhibits secretion from porcine parathyroid cells in culture. *Endocrinology* 1989;125:1617-1622.

²⁴⁶Drees BN, Hamilton JW. Pancreastatin and bovine parathyroid cell secretion. *Bone Miner* 1992; 17: 335-346.

²⁴⁷Fasciotto BH, Gorr SU, Bourdeau AM, Cohn DV. Autocrine regulation of parathyroid secretion inhibition of secretion by chromogranin-A (secretory protein-1) and potentiation of secretion by chromogranin-A and pancreastatin antibodies. *Endocrinology* 1990; 127: 1329-1335.

²⁴⁸Zhang J-X, Fasciotto BH, Darling DS, Cohn DV. Pancreastatin, a chromogranin A-derived peptide, inhibits transcription of the parathyroid hormone and chromogranin A genes and decreases the stability of the respective messenger ribonucleic acids in parathyroid cells in culture. *Endocrinology* 1994 ;134 :1310-1316.

²⁴⁹Sánchez V, Calvo JR, Goberna R. Glycogenolytic effect of pancreastatin in the rat. *Bioscience Rep* 1990;10:87-91.

²⁵⁰Sánchez-Margalet V, Calvo JR, Goberna R. Glycogenolytic and hyperglycemic effect of 33-49 C-terminal fragment of pancreastatin in the rat in vivo. *Horm Metab Res* 1992;24: 455-457.

²⁵¹Sánchez V, Lucas M, Calvo JR, Goberna R. Glycogenolytic effect of pancreastatin in isolated rat hepatocytes is mediated by a cyclic-AMP-independent Ca²⁺-dependent mechanism. *Biochem J* 1992; 284: 659-662.

²⁵²Sánchez-Margalet V, Lucas M, Goberna R. Pancreastatin increases free cytosolic Ca²⁺ in rat hepatocytes involving both pertussis-toxin-sensitive and insensitive mechanisms. *Biochem J* 1993;294 :439-442.

²⁵³Flood JF, Morley JE, Taternoto K. Effects of systemic pancreastatin on memory retention. *Peptides* 1988; 9: 1077-1080.

²⁵⁴Sánchez-Margalet V, Goberna R. Pancreastatin decreases plasma epinephrine levels in surgical stress in the rat. *Peptides* 1993; 14:797-799.

²⁵⁵Schmidt WE, Stöckmann F, Roy-Choudhury A, Wilms H-M, Siegel E-G, Nustede R, Folsch UR, Creutzfeldt W. Influence of CCK antagonist L-364, 718, pancreastatin (33-49) and a somatostatin analogue on camostate-induced rat pancreatic hypertrophy. *Digestion* 1989 ;44:105-116.

²⁵⁶Sánchez-Margalet V, Valle M, Goberna R. Receptors for pancreastatin in rat liver membranes: molecular identification and characterization by covalent cross-linking. *Mol Pharmacol* 1994;46:24-29.

²⁵⁷Lewis JJ, Goldenring JR, Asher VA, Modlin IM. Pancreastatin: a novel peptide inhibitor of parietal cell signal transduction. *Biochem Biophys Res Co* 1989; 163:667-673.

²⁵⁸Sánchez-Margalet V, Goberna R. Pancreastatin activates pertussis toxin-sensitive guanylate cyclase and pertussis toxin-insensitive phospholipase C in rat liver membranes. *J Cell Biochem* 1994; 55: 173-181.

²⁵⁹Sánchez-Margalet V, Lucas M, Goberna R. Pancreastatin activates protein kinase C by stimulating the formation of 1,2-diacylglycerol in rat hepatocytes. *Biochem J* 1994;303:51-54.

²⁶⁰Nishizuka Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumor promotion. *Nature* 1984; 308: 693-698.

²⁶¹Berridge JM. Inositol triphosphate and diacylglycerol: Two interacting second messengers. *Annu Rev Biochem* 1987; 56:159-193.

²⁶²Exton JH. Role of phosphoinositides in the regulation of liver function. *Hepatology* 1988; 8:152-166.

²⁶³Syversen U, Mignon M, Bofils S, Kristensen A, Waidum HL. Chromogranin A and pancreastatin-like immunoreactivity in serum of gastrinoma patients. *Acta Oncol* 1993; 32:161-165.

²⁶⁴Cryer PE, Wortsman J, Shah SD, Nowak AM, Deftos LJ. Plasma chromogranin-A as a marker of sympathochromaffin activity in humans. *Am J Physiol* 1991;260:E243-E246.

²⁶⁵Dimsdale JE, O'Connor DT, Ziegler M, Mills P. Chromogranin A correlates with norepinephrine release rate. *Life Sci* 1992;51:519-525.

²⁶⁶Sánchez-Margalet V, Valle M, Lobón JA, Escobar-Jimenez F, Perez-Cano R, Goberna R. Plasma pancreastatin-like immunoreactivity correlates with plasma norepinephrine levels in essential hypertension. *Neuropeptides* 1995;29:97-101.

²⁶⁷Sanchez-Margalet V, Valle M, Lobon JA, Maldonado A, Escobar-Jimenez F, Oliván J, Perez-Cano R, Goberna R. Increased plasma Pancreastatin-like immunoreactivity levels in non-obese patients with essential hypertension. *J Hipertens* 1995;13:251-258.

²⁶⁸Kjeldsen SE, Flaaten B, Eide I, et al. Evidence of increased peripheral catecholamine release in patients with long-standing, untreated essential hypertension. *Scand J Clin Lab Invest* 1982; 42:217-223.

²⁶⁹Esler M, Hasking GJ, Willet IR, et al. Noradrenaline release and sympathetic nervous system activity. *J Hypertension* 1985;3:117-129.

²⁷⁰Sanchez-Margalet V, Valle M, Lobon JA, Escobar-Jimenez F, Perez-Cano R, Goberna R. Plasma Pancreastatin-like immunoreactivity correlates with plasma norepinephrine levels in essential hypertension. *Neuropeptides* 1995;29:22-27.

²⁷¹Allemann Y, Weidmann P. Cardiovascular, metabolic and hormonal dysregulations in normotensive offspring of essential hypertensive parents. *J Hypertens* 1995;13:163-173.

²⁷²Hunter WM, Greenwood FC, The preparation of ¹²⁵I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Nature*. 1962;19:495-496.

²⁷³Syversen U, Jacobsen MB, O'Connor DT, Ronning K, Waldum HL. Immunoassays for measurements of chromogranin A and pancreastatin-like immunoreactivity in humans: correspondence in patients with neuroendocrine neoplasia. *Neuropeptides*.1994;26:201-206.

²⁷⁴Goldstein DS, Feuerstein G, Izzo JL, Kopin IJ, Keiser HR. Validity and reliability of liquid chromatography with electrochemical detection for measuring plasma levels of norepinephrine and epinephrine in man. *Life Sci.* 1981;28:467-475.

²⁷⁵Sanchez-Margalet V, Calvo JR, Lucas M, Goberna R. Pancreastatin and its 39-43 C-terminal fragment inhibit glucagon-stimulated insulin in vivo. *Gen Pharmacol.* 1992;23:637-638

²⁷⁶Sanchez-Margalet V. Goberna R. Pancreastatin decreases plasma epinephrine levels in surgical stress in the rat. *Peptides.* 1993 ; 14(4): 797-799

²⁷⁷Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest.* 1985;34:1345-1353.

²⁷⁸Contreras Gilbert J. Estudio de la insulín resistencia en pacientes hipertensos mediante el test de supresión insulínica con somatostatina. Efecto del tratamiento con Captopril. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, 1997.

²⁷⁹ Ferrari P, Weidmann P, Shaw S, Giachino D, Riesen W, Allemann Y, Heyen G. Altered Insulin sensitivity, hyperinsulinemia and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. *Am J Med.* 1991;91:589-596.

²⁸⁰ Facchini F, Ida Chen YD, Clinkingbeard C, Jeppesen J, Reaven G. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in nonobese individuals with a family history of hypertension. *Am J Hypertens.* 1992;5:694-699.

²⁸¹ Allemann Y, Horber FF, Colombo M, Ferrari P, Shaw S, Jaeger P, Weidmann P. Insulin sensitivity and body fat distribution in normotensive offspring of hypertensive parents. *Lancet.* 1993;341:327-331.

²⁸² Ohno Y, Suzuki H, Yamakawa H, Nakamura M, Otsuka K, Saruta T. Impaired insulin sensitivity in young, lean normotensive offspring of essential hypertensives: possible role of disturbed calcium metabolism. *J Hypertens.* 1993;11:421-426.

²⁸³ Beatty OL, Harper R, Sheridan B, Atkinson AB, Bell PM. Insulin resistance in offspring of hypertensive parents. *BMJ* 1993;307:92-96.

²⁸⁴ Grunfeld B, Balzaretto M, Romo M, Gimenez M, Gutman R. Hyperinsulinemia in normotensive offspring of hypertensive parents. *Hypertension* 1994;23(suppl 1):I-12-I-15.

²⁸⁵ Julius S, Nesbitt S. Sympathetic overactivity in hypertension. A moving target. *Am J Hypertens* 96;9:113s-120s.

²⁸⁶ Julius S, Gudbrandsson t. Early association of sympathetic overactivity, hypertension, insulin resistance, and coronary risk. *J Cardiovasc Pharm* 1992;20:540-548.

²⁸⁷ Facchini F, Stoohs RA, Reaven GM. Enhanced sympathetic nervous system activity. The linchpin between insulin resistance, hyperinsulinemia and heart rate. *Am J Hypertens*. 96;9:1013-1017.

²⁸⁸ Miall WE, Heneage P, Khosal T, Lovell HG, Moore P. Factors influencing the degree of resemblance in arterial pressure of close relatives. *Clin Sci* 1967;33:271-283.

²⁸⁹ Havlik RJ, Garrison RJ, Feinleib M, Kannel WB, Castelli WP, McNamara PM. Blood pressure aggregation in families. *Am J Epidemiol* 1979;110:304-312.

²⁹⁰ Holland WW, Beresford SAA. Factors influencing blood pressure in children. In: Paul O, ed. *Epidemiology and control of hypertension*. Miami:Symposia Specialists, 1975;375-386.

²⁹¹ Lee YH, Rosner B, Gould JB, Lowe EW, Kass EH. Familial aggregation of blood pressure of newborn infants and their mothers. *Pediatrics* 1976;58:722-730.

²⁹² Hennekens CH, Jesse MJ, Klein BE, Gourley JE, Blumenthal S. Aggregation of blood pressure in infants and their siblings. *Am J Epidemiol* 1976;103:457-467.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal Integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D. ELADIO RAMOS GONZALEZ-SERNA titulada RESPUESTA DE PANCREATITICA e INSULINA A LA SOBRECARGA INTRAUTERINA DE GLUCOSA EN NIÑOS NORMOTENSOS DE PADRES HIPERTENSOS ESSENCIALES. REINCION EN EL ESTADO DE RESIDENCIA A LA ESCUELA DE LOS PADRES. acordó otorgarle la calificación de APTO CON LAU DE

Sevilla, M de DICIEMBRE 1997

El Vocal,



El Vocal,

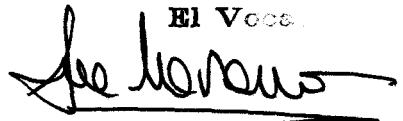
El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,



B. Gabele