



Fecha de presentación del Informe: Día  Mes  Año

### Datos generales del Proyecto

Código del proyecto: 1787			
Título del proyecto: Evaluación del sinergismo entre la metformina y sildenafilo en un modelo de hipertensión pulmonar en ratas			
Facultad o Instituto Académico: Salud			
Departamento o Escuela: Ciencias Básicas			
Grupo (s) de investigación: Centro de Estudios Cerebrales			
Investigadores <sup>1</sup>	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Mauricio Palacios Gómez	5 h/semana	5 h/semana
Coinvestigadores	Santiago Castaño	5 h/semana	5 h/semana
	Vicente Benavides	5 h/semana	5 h/semana
Otros participantes			

<sup>1</sup> Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.

## **1. Resumen ejecutivo:**

### **Adición de metformina a sildenafil, en el tratamiento de la hipertensión pulmonar experimental**

**Introducción:** Aunque la morbilidad por hipertensión pulmonar (HTP) es baja, los costos de la atención afectan los recursos de los programas sanitarios de aseguramiento. Por lo tanto, la mejor estrategia es contar con recursos terapéuticos adicionales que mejoren la calidad de vida e impacten favorablemente los sistemas sanitarios.

Se ha estudiado el efecto del sildenafil y la metformina en ratas con HTP, demostrando que ambos tratamientos son efectivos por separado para disminuir la presión sistólica en el ventrículo derecho (PSVD). Sin embargo, no existen estudios sobre su efecto combinado.

**Objetivo:** Este estudio evaluó los resultados hemodinámicos de la adición de metformina al tratamiento con sildenafil en un modelo animal de HTP

**Material y Métodos:** Se implementó un modelo de HTP inducida por monocrotalina (30 mg/kg) en ratas, y se comparó tres esquemas de tratamiento: metformina (100 mg/kg día), sildenafil (30 mg/kg día) y terapia combinada; con dos grupos control (positivo y negativo). Los medicamentos fueron administrados por gavage durante 60 días. Se estimó la fracción de eyección del ventrículo derecho (FEVD) por ecocardiografía los días 30 y 60. La hipertrofia ventricular se estimó con el Índice Fulton, la PSVD fue medida por cateterismo cardiaco derecho, se controlaron algunos parámetros bioquímicos como control toxicológico y el peso de los animales.

**Resultados:** Los esquemas terapéuticos evitaron la remodelación cardiaca (PSVD e índice Fulton,  $P < 0,01$ ) respecto al control positivo (monocrotalina). Ningún esquema evitó la disminución de la FEVD. (Figura 1) Los esquemas no presentaron alteraciones bioquímicas ni antropométricas al final del experimento (Tabla 1)

**Conclusión:** Metformina y sildenafil evitan los cambios funcionales en el corazón; pero es probable que el blanco primario de los dos fármacos es vascular y por lo tanto se recomienda realizar pruebas histológicas confirmatorias.



## **Addition of metformin to sildenafil in the treatment of experimental pulmonary hypertension**

**Introduction:** Although morbidity due to pulmonary hypertension (PH) is low, the costs of care affect the resources of health insurance programs. Therefore, the best strategy to have additional therapeutic resources that improve the quality of life and favorably impact health systems.

The effect of sildenafil and metformin has been studied in PH tests, demonstrating that both treatments are effective in in the right ventricle systolic pressure (RVSP). However, there are no studies on their combined effect.

**AIM:** To evaluate the hemodynamic results of the addition of metformin to treatment with sildenafil in an animal model of PH

**Material and Methods:** A model of PH induced by monocrotaline (30 mg / kg) in rats was implemented, and three treatment schemes were compared: metformin (100 mg / kg day), sildenafil (30 mg / kg day) and combined therapy; with two control groups (positive and negative). The medications were administered by gavaje for 60 days. The ejection fraction of the right ventricle (RVEF) was estimated by echocardiography on days 30 and 60. Ventricular hypertrophy was estimated with the Fulton Index, PSVD was measured by right cardiac catheterization, some biochemical parameters were controlled as toxicological control and the weight of the animals

**Results:** The therapeutic schemes avoided cardiac remodeling (RVSP and Fulton index,  $P < 0.01$ ) with respect to the positive control (monocrotaline). No scheme prevented the decrease in FEVD. (Figure 1) The schemes did not present biochemical or anthropometric alterations at the end of the process (Table 1)

**Conclusion:** Metformin and sildenafil avoid functional changes in the heart; but it is likely that the primary target of toxic drugs and therefore it is recommended to perform confirmatory histological tests.



## 2. Síntesis del proyecto:

### **Efectos hemodinámicos de la adición de metformina a sildenafil, en la hipertensión pulmonar experimental**

#### **Introducción**

La hipertensión pulmonar (HP) se define como un incremento en la presión media de la arteria pulmonar en reposo > 25 mmhg medida por cateterismo cardiaco derecho. Se caracteriza por la remodelación de las arterias pulmonares de pequeño calibre, que induce un incremento progresivo de la resistencia vascular y a falla del ventrículo derecho.

La patogénesis de la enfermedad es compleja, incluye alteración de la función endotelial, proliferación de células vasculares de musculo liso y migración de células inflamatorias; afecta población infantil y adultos jóvenes, con una incidencia baja en la población general, alta morbilidad y mortalidad. A pesar del bajo número de casos, los costos de atención son muy significativos para los sistemas de salud. En Colombia se estima que atender estos pacientes tiene un costo muy superior a los costos estimados de un paciente en hemodiálisis (alrededor de US\$30.000)

Tres grupos terapéuticos han demostrado eficacia en mejorar las pruebas clínicas y hemodinámicas en estos pacientes: Los inhibidores de la fosfodiesterasa, los antagonistas de los receptores de endotelina-1 y los análogos de las prostaciclina. Solos, o en terapia combinada, mejoran los síntomas clínicos, permiten un mayor nivel de calidad de vida y disminuyen las recaídas y hospitalizaciones. Y aunque el sildenafil es el medicamento más usado, hasta el momento ninguna terapia ha demostrado una clara diferencia en la supervivencia de los pacientes; es por eso que se propuso adicionar metformina a su tratamiento con el fin de establecer el sinergismo de estos dos para el tratamiento de la HP.



### **Objetivo General:**

Evaluar los resultados hemodinámicos de la adición de metformina al tratamiento con sildenafil en un modelo animal de HTP

### **Objetivos Específicos**

- Implementar un modelo animal de hipertensión pulmonar en ratas.
- Medir los cambios hemodinámicos y vasculares inducidos por metformina y sildenafil en un modelo de hipertensión pulmonar
- Comparar los efectos de estos medicamentos con la adición sinérgica de los mismos

### **Metodología:**

El protocolo fue aprobado por el comité de ética animal institucional de la Universidad del Valle. Se implementó un modelo de HP inducida por MCT subcutánea (30 mg/kg) en ratas Wistar machos (6 semanas de edad, peso 250-300g). Los animales habitaron en condiciones controladas: ciclos de 12 horas luz/oscuridad con libre acceso a comida y agua. Se compararon tres grupos de tratamiento: metformina (100 mg/kg día), sildenafil (30 mg/kg día) y terapia combinada, con dos grupos control positivo (HTP inducida por MCT tratada con solución salina) y negativo (Ratas sin HTP tratadas con solución salina). Todos los grupos tenían 8 animales. Los medicamentos o vehículos fueron administrados por gavage durante 60 días. Para la evaluación de los cambios hemodinámicos se estimó la fracción de eyección del ventrículo derecho (FEVD) a partir de los resultados ecocardiográficos realizados los días 30 y 60 de la inducción del modelo. Los animales fueron pesados diariamente y evaluados semanalmente las condiciones de salud.

Para medir la Presión Sistólica de Ventrículo Derecho (PSVD) se realizó cateterismo por vena yugular con un Catéter Perifix® conectado a un transductor de presión; los datos fueron adquiridos en un sistema PowerLab®. La hipertrofia ventricular se estimó con el Índice Fulton:



$$\text{Índice Fulton} = \frac{\text{Peso Ventrículo derecho}}{\text{Peso Ventrículo izquierdo} + \text{Septum}}$$

Los animales fueron eutanasiados bajo anestesia general con xilacina /ketamina y se realizó perfusión con solución salina normal seguida de paraformaldehido buffer al 4%. Se disecó el corazón para el índice de Fulton, se tomaron muestras de vasos pulmonares de diferentes calibres para un posterior análisis por inmunohistoquímica (en proceso) y muestras de tejido para estudios de toxicidad. Con el software Graph PAD Prism se realizó una descripción de los datos expresados como promedios  $\pm$  desviación estándar. Las comparaciones de los grupos se realizaron con ANOVA de una vía seguido de la prueba posthoc de Tukey's. Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo.

### **Resultados:**

Terminaron 39 animales todas las fases experimentales. Falleció un animal durante el cateterismo en el grupo control negativo. La inducción del modelo fue adecuada mostrando cambios de hipertensión pulmonar en todos los animales, esto mediante la confirmación del incremento de la PSVD en el cateterismo.

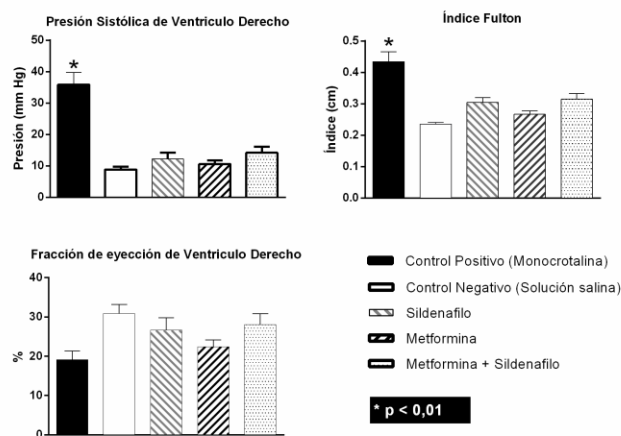
Respecto a los estudios toxicológicos medidos con bioquímica sanguínea no se encontraron diferencias en valores de función renal (Proteína total, creatinina) ni en función hepática (ALT, AST, ALP-AMP y bilirrubina total) (Tabla 1). No se encontraron diferencias significativas en el peso de los animales de los 5 grupos; todos tuvieron un crecimiento similar y tanto al inicio como al final de los 60 días de protocolo farmacológico los pesos fueron estadísticamente similares.

Tabla 1

PARAMETRO	Monocrotalina Media (D.E)	Metformina Media (D.E)	Sildenafil Media (D.E)	Metformina+Sildenafil Media (D.E)	Control negativo Media (D.E)
Proteína total (g/dL)	6.49 (0.66)	6.14 (0.44)	6.17. (0.66)	6.11 (0.71)	5.53 (0.68)
Creatinina (mg/dL)	0.61 (0.15)	0.66 (0.62)	0.59 (0.06)	0.56 (0.10)	0.74 (0.08)
ALT (U/L)	55.14 (9.68)	59.29 (18.05)	83.63 (30.69)	59.0 (40.88)	45.8 (25.35)
AST (U/L)	154.40(50.30)	195.60 (65.92)	208.40 (67.73)	131.8 (40.63)	197.5 (105.2)
ALP-AMP (U/L)	174.7 (48.78)	114.30 (26.99)	142.9 (60.25)	108.0 (47.55)	170.0 (22.97)
Bilirrubina total (mg/dL)	0.31 (0.30)	0.41 (0.33)	0.93. (0.80)	0.25 (0.30)	0.20 (0.074)

Se realizó cateterismo cardiaco derecho 8 semanas después de la inyección de MCT, la evaluación con catéter reveló que la PSVD se elevó significativamente en el grupo MCT comparado con el grupo control negativo, la monoterapia con sildenafil y metformina significativamente redujo la PSVD al igual que su combinación; sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de monoterapia y el grupo de terapia combinada. (Figura 1). Respecto a la valoración de hipertrofia cardiaca, se confirmó un desarrollo significativo de en el grupo MCT comparado con el grupo control negativo, al igual que en los grupos de intervención, los cuales redujeron la hipertrofia sin diferencias entre monoterapia y terapia combinada. En la valoración electrocardiográfica, ningún esquema evitó la disminución de la FEVD (Figura 1).

Figura 1





**Conclusión:**

Tanto metformina como sildenafil generaron disminución de la PSVD, lo mismo sucedió con la terapia combinada; sin embargo en este parámetro no se encontraron resultados sinérgicos entre los fármacos.

No se encontró diferencia significativa en la FEVD en los grupos de tratamiento

Los fármacos utilizados generaron disminución en la hipertrofia cardiaca generada por la HP inducida por MCT

Se realizarán las valoraciones histológicas con el fin de valorar si el blanco principal es vascular y así determinar si la terapia combinada de sildenafil y metformina es más efectiva que la monoterapia.





**3. Productos:**

**Tabla No. 1. Cantidad y tipo de productos pactados en el Acta de Trabajo y Compromiso y productos finalmente presentados**

<b>TIPO DE PRODUCTOS</b>	<b>No. de PRODUCTOS PACTADOS</b>		<b>No. de PRODUCTOS PRESENTADOS</b>	
<b>Productos de nuevos conocimientos</b>				
Artículo completo publicado en revistas A1 o A2	1		0	
Artículo completo publicados en revistas B	1		0	
Artículo completo publicados en revistas C	0		0	
Libros de autor que publiquen resultados de investigación	0		0	
Capítulos en libros que publican resultados de investigación	0		0	
Productos o procesos tecnológicos patentados o registrados	0		0	
• Prototipos y patentes	0		0	
• Software	0		0	
Productos o procesos tecnológicos usualmente no patentables o protegidos por secreto industrial	0		0	
Normas basadas en resultados de investigación	0		0	
<b>Formación de recursos humanos</b>	No. de estudiantes vinculados	No. de tesis	No. De estudiantes Vinculados	No. De tesis
Estudiantes de pregrado	2	0	2	0
Semillero de Investigación	0	0	0	0
Estudiantes de maestría	0	0	0	0
Estudiantes de doctorado	1	1	1	1
<b>Productos de divulgación</b>				



TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales
Publicaciones en revistas no indexadas				
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)				
<b>Propuesta de investigación</b>	1	1	2	0
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.				

**Tabla No. 2. Detalle de productos.**

Tipo de producto:	Ponencia en congreso Nacional
Nombre General:	Ponencia en congreso Nacional de Farmacología 2017
Nombre Particular:	Adición de metformina a sildenafil, en el tratamiento de la hipertensión pulmonar experimental
Ciudad y fechas:	Bucaramanga (Colombia), Agosto de 2017
Participantes:	Mauricio Palacios, Santiago Castaño, Melissa Silva, Vicente Benavides
Sitio de información:	El congreso de farmacología no genera memorias del evento
Formas organizativas:	Centro de estudios cerebrales



Tipo de producto:	Ponencia en congreso Nacional
Nombre General:	Ponencia en congreso Nacional de Neumología 2017
Nombre Particular:	Efectos hemodinámicos de la adición de metformina a sildenafil, en el tratamiento de la hipertensión pulmonar experimental
Ciudad y fechas:	Barranquilla (Colombia), Agosto de 2017
Participantes:	Mauricio Palacios, Santiago Castaño, Melissa Silva, Vicente Benavides
Sitio de información:	Por solicitud de los investigadores, el resumen no fue publicado en las memorias del evento debido a que eso puede afectar en un futuro la publicación de los resultados en una revista indexada (Anexo carta de aceptación de ponencia)
Formas organizativas:	Centro de estudios cerebrales



Bucaramanga, 18 de Julio de 2017

Doctor  
**MAURICIO PALACIOS GÓMEZ**  
Profesor Asociado - Farmacología  
Facultad de Salud  
Universidad del Valle  
Presente

Respetado Dr. Palacios:

De acuerdo a los parámetros establecidos en los concursos de investigación que se llevarán a cabo durante el XVI Congreso Colombiano de Farmacología y Terapéutica en la ciudad de Bucaramanga, los días 3 al 6 de Agosto; sus trabajos titulados: **“Modelo de cultivo organotípico agudo de cerebro de rata para la evaluación de fármacos neuroprotectores en la fase aguda del trauma craneo encefálico”** y **“Efectos hemodinámicos de la adición de metformina al tratamiento con sildenafil en la hipertensión pulmonar experimental”**, clasificaron para la presentación en forma de Poster.

Se le recuerda que estas presentaciones serán la tercera etapa del proceso de selección, y la presentación de Poster será evaluada durante la realización del Congreso. Al llegar al sitio de presentación se les adjudicará el espacio correspondiente a sus trabajos.

Se certifica a favor del interesado por las disposiciones legales a que haya menester.

Atento y cordial saludo,

Diego Rincón Castillo



Bogotá D.C, 11 de julio de 2017

Doctor(a)  
**Vicente Benavides**  
**Seudónimo MONOCROTALINE**  
Ciudad

Apreciado(a) Doctor(a):

Por medio de la presente queremos informarle que su trabajo "Efectos hemodinámicos de la adición de METFORMINA A SILDENAFILO, en la hipertensión pulmonar experimental." ha sido aceptado para presentación oral en el XVII Congreso Colombiano de Neumología y Cirugía de Tórax en la modalidad **TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.**

Favor tener en cuenta las siguientes indicaciones:

1. Área: **Enfermedad Vascular pulmonar – Hipertensión Pulmonar**
2. Presentación oral el Día: **Viernes 04 de agosto**  
Hora: **16:10 PM**  
Salón: **AMADEUS 1**

Dispone de 7 minutos de presentación y 3 minutos de preguntas

3. La Asociación le dará la inscripción al congreso para el primer autor o el delegado; realizar su inscripción por medio del link <http://www.sucongreso.com/preinscripcion/preRegistro.aspx?id=30338> diligenciar el formulario donde dice CATEGORÍA escoger invitado por código y al final del proceso cuando le preguntar validar el código colocar el siguiente: **d79c736a**

Agradecemos su interés por el participar en el Congreso, con el aporte que usted realiza en el campo de la investigación contribuye al éxito de nuestro evento.

Atentamente,

**MARY BERMÚDEZ GOMEZ, MD.**  
Coordinadora Trabajos Científico

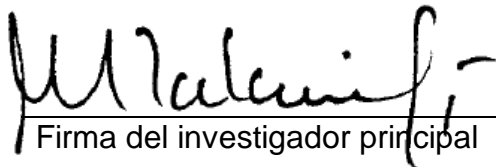


#### **4. Impactos actual o potencial:**

Desarrollo de un modelo de hipertensión arterial pulmonar en ratas; además de lo anterior, se logró estandarizar la técnica de cateterismo cardiaco derecho para medición de la presión sistólica del ventrículo derecho y la realización de ecocardiograma enfocado a valorar función cardiaca derecha, estos procesos; aunque ya han sido utilizados por otros grupos de investigación, serán de importancia puesto que por primera vez son probados por un grupo Colombiano, y son el inicio de nuevos ensayos en la investigación en Hipertensión Pulmonar.

Con el presente trabajo se estableció que la metformina reduce la presión sistólica del ventrículo derecho y evita la hipertrofia cardiaca consecuencia de la hipertensión pulmonar; este medicamento no es utilizado en el ámbito clínico para el tratamiento de los pacientes con esta patología, y el presente estudio puede ser el primer paso hacia la inclusión de la indicación de metformina para hipertensión pulmonar

*La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:*

  
Firma del investigador principal

\_\_\_\_\_  
VoBo. Vicedecano de Investigaciones

*Por favor presente su informe impreso y en formato digital en hoja tamaño carta, letra arial 11, con espacios de 1 1/2*