



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

EFFECTOS DEL AGUACATE SOBRE LAS LIPOPROTEINAS DE
ALTA DENSIDAD EN RATAS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
GARCIA HERNANDEZ LIZBETH



MEXICO, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**



JURADO ASIGNADO :

Presidente: ROGELIO RODRÍGUEZ SOTRES

Vocal: LUCIA GABRIELA BASCUÑAN TERMINI

Secretario: OSCAR ARMANDO PÉREZ MÉNDEZ

1er suplente: JUAN DIEGO ORTIZ PALMA

2do suplente: EDUARDO CUMMING GONZALEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA ÁREA DE INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"



OSCAR A. PÉREZ MÉNDEZ
ASESOR DE TESIS



JOSÉ MARÍA FARIAS SÁNCHEZ
SUPERVISOR TÉCNICO



GARCÍA HERNÁNDEZ LIZBETH
SUSTENTANTE

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a publicar en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: García Hernández
Lizbeth

FECHA: 23 de Marzo 2009

FIRMA: [Firma manuscrita]

La vida no es ningún pasillo recto y fácil que recorreremos libres y sin obstáculos, sino un laberinto de pasadizos, en el que tenemos que buscar nuestro camino, perdidos y confusos, detenidos, de vez en cuando, por un callejón sin salida.

Pero, si tenemos fe, siempre se abre una puerta ante nosotros; quizá no sea la que imaginamos, pero sí será, finalmente, la que demuestre ser buena para nosotros.

A. J. CRININ

AGRADECIMIENTOS

A *Dios* doy gracias por haberme acompañado a lo largo de mi vida y por permitirme ver realizado uno más de mis sueños.

A *mis padres* por ser los pilares de mi vida, ya que con sus regaños logre ubicar lo bueno y lo malo, por sus sacrificios y desvelos, por su buen ejemplo, por la fe que depositaron en mi y por dárme todo sin esperar a cambio más que el orgullo de hacer de mi una profesionista. Los quiero.

A *mi hermana Evelyn* por ser mi compañera y amiga en todo momento.
TQM

A Gustavo por su interés y por su amistad.

A *Vanessita* por darle alegría a nuestras vidas.

A *Juan Carlos* por su amor, por su paciencia y apoyo incondicional en todo momento. Te amo

A mi Abuela, a mis tíos y a cada miembro de mi familia que siempre han estado a mi lado apoyándome e impulsándome a seguir siempre adelante.

A la *Dra Andrea Gabayet* por ser uno de los pilares más fuertes que tuve en mi formación, por su sabiduría y por su cariño.

A Iralda, Paola, Erika y Vanesa por ser mis mejores amigas.

A mis compañeros de la facultad: Isela, Eric, Cesar, Mauricio, José Luis, Omar, Vicente, Emilio, Mario, Miguel, Miran, Pedro, Pancho y todos aquellos que me acompañaron en esta gran aventura.

A *Tomás* por ser un amigo de los que solo existe uno en la vida.

A la *Dra. Claudia Huesca* por ser mi guía en el laboratorio, pero principalmente por su amistad incondicional.

Infinitamente agradezco al *Dr. José María Farias* por haber sembrado en mi la vocación de servir y ser cada día mejor en todos los aspectos. Para quien la principal satisfacción ha sido verme alcanzar esta meta y a quien nunca podré defraudar.

A los miembros de mi jurado por las valiosas aportaciones e interés a este trabajo.

Muy en especial agradezco al *Dr. Oscar Pérez*, asesor de esta tesis, por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por su paciencia, por sus valiosos consejos para que este proyecto pudiera llegar a su fin, por ser mi guía y ejemplo a seguir, por su paciencia pero sobre todo por su amistad.

ABREVIATURAS

ABCA -1: ATP-Binding cassette transporter A1

apo: Apolipoproteínas

apo C's: Apolipoproteínas CI, CII y CIII

ARE: Enzima aril esterasa

BHT: Butil hidroxitolueno

CE: Colesterol esterificado

CETP: Proteína de transferencia de ésteres de colesterol

C-HDL: Colesterol de las lipoproteínas HDL

CL: Colesterol libre

C-LDL: Colesterol de las lipoproteínas LDL

CT: Colesterol total

DCA: Dieta suplementada con aguacate

D. E: Desviación estándar

DH: Dieta habitual

EAC: Enfermedad aterosclerosa coronaria

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia

ITG: Intolerancia a la glucosa

LCAT: Lecitina colesterol acilo transferasa

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

LDLox: Lipoproteínas de baja densidad oxidadas

LH: Lipasa hepática

Lp: lipoproteína

LPL: lipoproteína lipasa

LRTG: Lipoproteínas ricas en triglicéridos (Qm, LDL, IDL y VLDL)

PAGGE: Electroforesis en gradiente de gel de poliacrilamida

PLTP: Proteína de transferencia de fosfolípidos

PON 1 : Paraoxonasa 1

ROS: Especies oxidantes reactivas

SR-B1: Receptor scavenger clase B tipo 1

TG: Triglicéridos

TRC: Transporte reverso del colesterol

UCF: Ultracentrifugación diferencial

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

INDICE

I . RESUMEN	9
II . ANTECEDENTES.....	12
II. I Lipoproteínas	12
II .I .1 Estructura de las lipoproteínas	13
A. Lípidos	13
B. Apolipoproteínas.....	16
II .I .2 Clasificación de las lipoproteínas.....	19
II .I .3 Metabolismo de las lipoproteínas.....	22
Enzimas y proteínas involucradas en el metabolismo de las lipoproteínas.	22
Metabolismo de quilomicrones.....	24
Metabolismo de las VLDL.....	25
Metabolismo de las LDL.....	26
II. II Lipoproteínas de alta densidad (HDL).....	27
II .II .1 Características y clasificación.....	27
II .II .2 Subclasificación basada en los tamaños.....	28
II .II .3 Importancia de las HDL.....	29
II .II .4 Metabolismo de las HDL (TRC).....	30
II .II .5 Capacidad antioxidante de las HDL.....	33
II .II .6 Estructura y función de la paraoxonasa (PON1).....	35
II .III Aterosclerosis	36
II .IV El aguacate.....	39
II .IV .1 Características botánicas.....	40
II .IV .2 Valor nutritivo	40
Composición química por 100g de aguacate	42
II .V. Aguacate y Aterosclerosis.....	44
III. JUSTIFICACIÓN	48
IV. HIPÓTESIS.....	50
V. OBJETIVOS.....	51

VI. METODOLOGÍA.....	52
VII. RESULTADOS.....	58
Tabla 8. Dietas utilizadas en el estudio.....	58
Tabla 9. Peso de los animales y perfil de lípidos de los grupos utilizados en este estudio.....	60
CARACTERIZACIÓN DE LAS HDL.....	60
Tamaño de las HDL.....	60
Composición en apolipoproteínas.....	63
Composición de HDL.....	64
Actividad de la paraoxonasa.....	66
VIII. DISCUSIÓN.....	67
IX. CONCLUSIÓN.....	72
X. PERSPECTIVAS.....	73
X. BIBLIOGRAFÍA.....	74
ANEXOS.....	81

I. RESUMEN

Existen evidencias de que en México se ha incrementado la incidencia de cardiopatía coronaria. En las últimas décadas, la mortalidad por esta enfermedad ha aumentado progresivamente, hasta alcanzar el primer lugar en varias zonas del país. En más del 90% de los casos de cardiopatía isquémica es secundaria la aterosclerosis coronaria. Las lipoproteínas juegan un papel protagónico en esta enfermedad. En este contexto, es bien conocida la correlación negativa entre las concentraciones de C-HDL y la incidencia de desarrollar enfermedad arterial coronaria (EAC). El papel protector que presentan las HDL se ha atribuido al papel que juegan en el transporte reverso del colesterol (TRC). Recientemente, se ha sugerido que no es tan importante la concentración plasmática de colesterol-HDL como factor cardioprotector, sino el tipo de partículas HDL que están presentes en el plasma. El tipo de partículas HDL presentes en plasma es el resultado del equilibrio dinámico que existe entre la síntesis, su catabolismo y las proteínas que participan en la remodelación de HDL.

La incorporación del aguacate en la dieta cotidiana podría contribuir de manera benéfica en el perfil lipídico y, en particular, modificando el metabolismo de las HDL hacia una distribución más favorable.

Por todo lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto potencial de las dietas con aguacate sobre el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad.

Se utilizaron ratas Wistar macho a las cuales se les administraron dietas diferentes; el grupo control recibió la dieta habitual (DH) y el segundo grupo una dieta isocalórica rica en aguacate (DCA). Se determinaron el perfil lipídico, la actividad de las enzimas y proteínas

de transporte que participan en el metabolismo de las HDL, así como el tamaño y la composición química de las mismas. Nuestros resultados muestran que el aguacate induce una disminución significativa del 27.6 % de los triglicéridos y un aumento del 17.1 % en la concentración de C-HDL. Además, la DCA induce una disminución del 7.4 % en el tamaño de las HDL asociada a una discreta reducción del 6.3 % en la proporción de apo A-I de estas partículas. La composición química de las HDL se ve también modificada por la DCA, ya que aumenta significativamente el contenido de fosfolípidos en un 9%, la proteína disminuye un 13%, mientras que otros componentes como los triglicéridos, ésteres de colesterol y colesterol libre, se mantienen sin cambios. La actividad de la lecitina:colesterol acilo transferasa y el contenido de proteína transportadora de fosfolípidos no se ven modificadas por la DCA. Para profundizar si los cambios estructurales de las HDL inducidos por la dieta con aguacate pudiera tener algún significado fisiológico, determinamos la actividad de la paraoxonasa que está asociada físicamente con las HDL y que se relaciona con la inhibición de la oxidación de las LDL. Nuestros resultados demuestran que la actividad de esa enzima aumenta en un 33.63 %, sugiriendo que el aguacate puede contribuir a disminuir el estrés oxidativo a través de la elevación de la paraoxonasa en plasma.

En resumen, el aguacate contribuyó a mejorar el perfil lipídico en nuestro modelo animal y modificó la estructura de las HDL. Tales modificaciones estructurales se relacionan con un aumento del potencial antilipoperoxidos del plasma por incrementos en la actividad de la paraoxonasa que puede resultar en un menor riesgo de desarrollar aterosclerosis. El estudio de la cinética de la síntesis y catabolismo así como la función de las HDL modificada por la

ingesta de aguacate proporcionará más información acerca del potencial efecto antiaterogénico de este fruto.

II. ANTECEDENTES

II. I LIPOPROTEÍNAS

Los lípidos son biomoléculas orgánicas relativamente insolubles en plasma. Para poder ser transportados desde su lugar de síntesis hasta su destino final, en algunos de los sistemas biológicos se unen a proteínas solubles formando complejos llamados lipoproteínas. Las lipoproteínas son complejos macromoleculares y pseudomicelares, constituidas principalmente por un núcleo de lípidos hidrofóbicos (apolar), como triglicéridos (TG) y ésteres de colesterol rodeados de una mezcla de lípidos anfipáticos, principalmente fosfolípidos y colesterol libre.

Dicho complejo macromolecular se estabiliza en términos fisicoquímicos por estructuras llamadas apolipoproteínas (apo), que se unen por interacciones hidrofóbicas a los lípidos más externos y por atracciones electrostáticas a las cabezas polares de los fosfolípidos¹.

(Fig. 1)

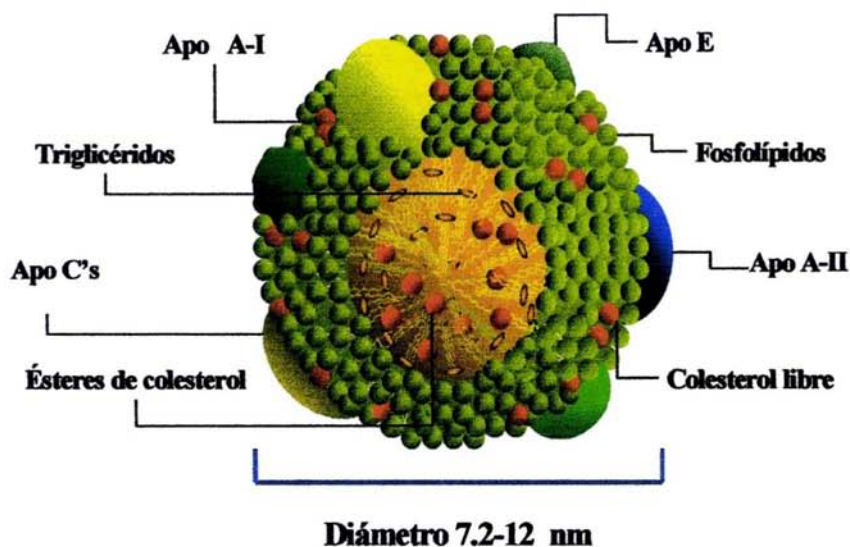


Figura 1. Representación esquemática de la organización de los lípidos en una lipoproteína de alta densidad.

II.1.1 ESTRUCTURA DE LAS LIPOPROTEÍNAS

A. LÍPIDOS

Los lípidos son sustancias de origen biológico, insolubles en el agua pero solubles en disolventes orgánicos. Esta condición de apolaridad es la característica que los define. La clasificación de los lípidos está dada principalmente por su estructura, pero sólo algunos de ellos se encuentran asociados con las lipoproteínas. Entre ellos tenemos :

ÁCIDOS GRASOS: Dentro de los lípidos, los ácidos grasos son los más sencillos en términos de estructura. Son ácidos orgánicos que poseen una cadena hidrocarbonada (R) y un grupo carboxílico terminal (R-COOH) con un número par de átomos de carbono cuyas cadenas alifáticas pueden tener una o más insaturaciones. Los ácidos grasos difieren entre sí, en primer lugar por la longitud de su cadena y también por el número y la posición de sus insaturaciones. Cuando todos los enlaces de la cadena R son sencillos la molécula es un ácido graso saturado. Si la cadena R presenta un doble enlace entre carbonos se denominan ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados si hay dos o más enlaces dobles. La combinación de un grupo ionizable y una cadena alifática le confiere a los ácidos grasos un carácter anfipático (Fig.2).

Existen varios tipos de lípidos que son derivados o que contienen ácidos grasos, tales como los triglicéridos, fosfolípidos y los cerebrósidos.

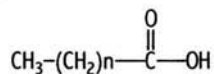


Figura 2. Estructura química de un ácido graso, n = 14 a 22.

TRIGLICÉRIDOS (triacilgliceroles): Constituyen la familia más abundante de lípidos y los principales componentes de los lípidos de reserva de las células vegetales y animales. Están compuestos de tres ácidos grasos unidos con un enlace éster a un glicerol. La naturaleza apolar y el estado altamente reducido que poseen los hacen compuestos eficientes para almacenar energía (Fig. 3).

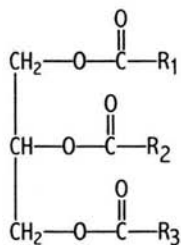


Figura 3. Estructura química general de los triglicéridos.

FOSFOGLICÉRIDOS: Están formados por dos ácidos grasos unidos a dos grupos hidroxilo del glicerol por un enlace éster y un tercer grupo hidroxilo del glicerol forma un enlace fosfodiéster con un grupo fosfato. Su clasificación depende del grupo sustituyente en el fosfato. Los fosfoglicéridos más abundantes son la fosfatidilcolina (también llamada lecitina), la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina (Fig. 4).

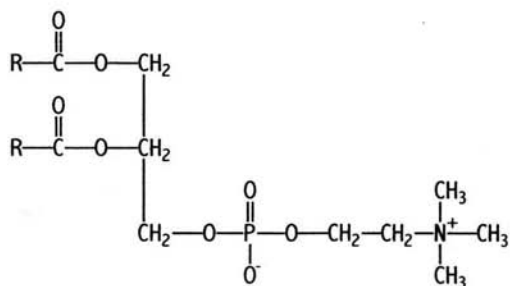


Figura 4. Estructura química general de una lecitina (fosfoglicérido).

ESTEROLES: Son considerados como lípidos y forman parte de las lipoproteínas. Los esteroides son de origen eucariótico a menudo se encuentran asociados a las grasas, se componen de un núcleo cíclico semejante al del fenantreno el cual se une un anillo de ciclo pentano (ciclopentanoperhidrofenantreno). Dentro de este grupo podemos encontrar al colesterol, ampliamente distribuido en todas las células del organismo como componente estructural de membranas, es precursor de las sales biliares, de algunas hormonas como las sexuales y adrenales, y algunas vitaminas.

También es abundante en las lipoproteínas del plasma sanguíneo, en las que alrededor de un 70% se encuentra esterificado con ácidos grasos de cadena larga formando ésteres de colesterol^{2,3} (Fig. 5).

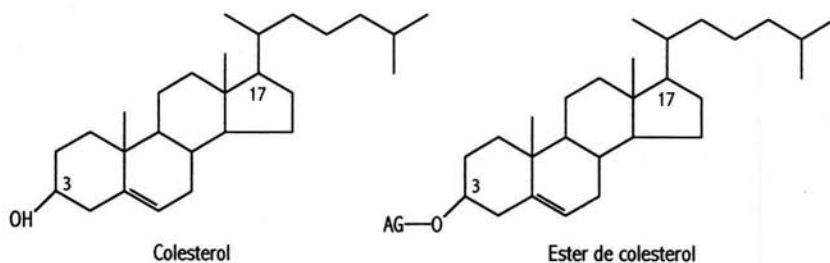


Figura 5. Estructura química del colesterol libre y el colesterol esterificado. AG= ácido graso

B. APOLIPOPROTEÍNAS

Otro componente de las lipoproteínas son las apolipoproteínas. Las unidades proteicas aisladas de las lipoproteínas y que aun no se incorporan a ellas, se denominan apoproteínas, cuando forman complejos no covalentes con las lipoproteínas se les denomina

apolipoproteínas (apo). Estos polipéptidos son de peso molecular muy variable y son componentes estructurales del cuerpo lipídico, son ligandos de receptores y son cofactores de enzimas del metabolismo de los lípidos. Las diferentes apolipoproteínas con sus diferentes características⁴ se resumen en la Tabla 1.

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS APOLIPOPROTEÍNAS

Apolipo-proteína	Masa molecular	Punto isoelectrico	Sitio de síntesis	Concentración plasmática (mg/dL)	Función
A-I	29,016	5.9-5.4	Intestino e hígado	100-150	Principal proteína componente de las HDL, activador de LCAT, estimula el eflujo del colesterol, ligando de las HDL para unión de SR-B1 y ABCA1.
A-II	14,414	5.0	Intestino e hígado	30-50	Segundo componente en abundancia de las HDL, inhibidor de LH y de la LCAT.
A-IV	44,465	5.5	Intestino	15	Activador de LCAT, modulador de LPL y estimulador de eflujo de colesterol.
B-100	512,723	-	Hígado	80-100	Ligando para receptor de LDL.
B-48	240,800	6.8	Intestino	-	Proteína estructural de los quilomicrones. Contiene el 48% de las aminoácidos de la apo B-100.
C-I	6,630	7.5	Hígado	4-6	Activador de LCAT, inhibe la captación hepática de triacilgliceroles.
C-II	8,900	4.9	Hígado	3-5	Activador LPL, inhibe la captación hepática de lipoproteínas ricas en triacilgliceroles.
C-III _{0,1,2}	8,800	4.5-5.0	Hígado	12-14	Inhibidor de la LPL.
E _{2,3,4}	34,145	5.7-6.0	Hígado	3-5	Ligando de receptor de LDL y de residuos de quilomicrones, movilización de colesterol celular en macrófagos y eflujo de colesterol.

Tabla 1. Características de las apolipoproteínas que forman parte de las lipoproteínas. Lipoproteínas de alta densidad (HDL: High Density Lipoproteins), LCAT: Lecitina colesterol acilo transferasa, SR-B1: Receptor Scavenger clase B1 (Scavenger Receptor Class B1), ABCA1: Transportador independiente de ATP (ATP-binding cassette transporter), LPL: Lipoproteína lipasa, Lh: Lipasa hepática. Lipoproteínas de baja densidad (LDL: Low Density Lipoproteins).

II. I. 2 CLASIFICACIÓN DE LAS LIPOPROTEÍNAS

Las lipoproteínas se clasifican de acuerdo a su densidad de flotación en cinco categorías: Quilomicrones (Qm), Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL: Very Low Density Lipoproteins), Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL; Intermediate Density Lipoproteins), Lipoproteínas de baja densidad (LDL: Low Density Lipoproteins), Lipoproteínas de alta densidad (HDL: High Density Lipoproteins). Las características de estas partículas se resumen en la Tabla 2 y se describen a continuación:

QUILOMICRONES (Qm)

Estos se sintetizan en el intestino y su principal función es transportar los triglicéridos y colesterol exógenos provenientes de la dieta a los diversos tejidos. Son las fracciones de mayor tamaño y de menor densidad ($\delta = <0.93$ g/ml). Contienen apo B-48, apo A-I, A-II y apo A-IV. Por interacción con moléculas HDL recogen también moléculas de Apo C-II. Al perder gran cantidad de triglicéridos por acción de la lipoproteína lipasa (LPL), vuelven a interactuar con las HDL, esta vez para ceder Apo A-I, Apo A-II, Apo C's y parte de su contenido de lípidos para transformarse en un remanente de quilomicrón. El remanente contiene principalmente colesterol, Apo B-48 y Apo E. Los receptores de apo B/E en el hígado reconocen el remanente de quilomicrón para iniciar la endocitosis y su posterior degradación hepática dando lugar a lipoproteínas de muy baja densidad.

LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD (VLDL)

Son sintetizadas en el hígado a partir de remanentes de quilomión, contienen principalmente triglicéridos, Apo B-100 y Apo E, su densidad de flotación es de 0.93 - 1.006 g/ ml. Su catabolismo mediado por la Apo C-II como colector de la lipoproteína lipasa da lugar a IDL.

LIPOPROTEÍNAS DE DENSIDAD INTERMEDIA (IDL)

Las VLDL se transforman en partículas IDL, que contienen cantidades casi iguales de colesterol y triacilglicéridos respecto a las primeras. Las apo B100 y apo E son sus principales apolipoproteínas y su densidad de flotación es de 1.006 - 1.019 g/ ml. La apo E es necesaria para la captación hepática de las IDL y su degradación posterior a LDL con intervención de la lipasa hepática.

LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD (LDL)

A medida que las partículas IDL donan sus lípidos y se enriquecen en ésteres de colesterol, adquieren el tamaño de las LDL. Las moléculas de apo B-100 empacadas en las VLDL originales, son reconocidas por sus receptores hepáticos específicos y capturan la partícula entera para su degradación intracitoplasmática. Su densidad de flotación es de 1.019 - 1.063 g/ml.

LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL)

La principal función de las lipoproteínas de alta densidad es captar colesterol libre circulante derivado del catabolismo de otras lipoproteínas o de la superficie de las células

periféricas. Están formadas básicamente por proteínas, fosfolípidos y colesterol esterificado. Las principales apolipoproteínas son: apo A-I y Apo A-II. Las HDL pueden proceder de la síntesis hepática, donde se producen en forma de partículas pre- β 1 las cuales están compuestas esencialmente por fosfolípidos y apo A-I, con una masa molecular de 60kD. Desempeñan un papel muy importante en la captación de colesterol en las células periféricas, funcionando como primeros aceptores de colesterol durante el transporte reverso del colesterol (TRC).

TABLA 2. PROPIEDADES DE LAS LIPOPROTEÍNAS

	Quilomicrón	VLDL	LDL	HDL
Densidad de flotación (g/ml)	< 0.93	0.93 – 1.006	1.019 – 1.063	1.063 – 1.21
Diámetro	75 – 1 200	30 -80	18 - 25	5 - 12
% Proteínas	2	8	22	45
% Triglicéridos	86	55	6	4
% Colesterol libre	2	7	8	4
% Colesterol esterificado	3	12	42	14
% Fosfolípidos	7	18	22	34
Función	Transporte de colesterol y triglicéridos desde el intestino.	Transporte de lípidos de origen hepático hacia los tejidos periféricos.	Transporte de colesterol a tejidos periféricos.	Transporte de colesterol de tejidos periféricos hacia el hígado.
Origen	Pared intestinal	Hígado	Catabolismo de las VLDL e IDL	Hígado e intestino

VLDL = (Very Low Density Lipoproteins) lipoproteínas de muy baja densidad; LDL = (Low Density Lipoproteins) Lipoproteínas de baja densidad; IDL = (Intermediate Density Lipoproteins) Lipoproteínas de densidad intermedia; HDL = (High Density Lipoproteins) Lipoproteínas de alta densidad.

Como puede observarse en la Tabla 2 las diferentes clases de lipoproteínas presentan diferencias en cuanto a composición, tamaño, densidad de flotación, movilidad electroforética y función⁵.

II.1.3 METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS

ENZIMAS Y PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN EL METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS.

La composición de las lipoproteínas plasmáticas se ve modificada continuamente, como resultado del intercambio dinámico y la transferencia de lípidos que hay entre ellas durante su metabolismo intravascular. Una gran variedad de enzimas, proteínas y algunos receptores membranales como el SR-B1 y el ABCA1 están involucrados en este metabolismo, ya que influyen en la concentración de lípidos por su actividad de transporte (proteínas de transferencia) o de hidrólisis de los mismos (enzimas hidrolíticas). En la tabla 3 se presentan algunas características destacables de las enzimas y proteínas de transporte que intervienen en el metabolismo de las lipoproteínas ^{4, 6, 7}.

TABLA 3. ENZIMAS Y PROTEÍNAS DE TRANSPORTE INVOLUCRADAS EN EL METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS.

NOMBRE	FUNCIÓN	ORIGEN
LCAT	Cataliza la transferencia de un ácido graso de un fosfolípido al colesterol libre que se encuentra en las HDL y en las LDL. Contribuye a la maduración de las HDL.	Hepático
LH	Hidroliza los triglicéridos y los fosfolípidos de HDL, IDL y LDL. Es cofactor de SR-B1 para una captación selectiva, así como la generación de Apo AI libre de lípidos.	Hepático
LPL	Hidroliza los triglicéridos de VLDL y Qm utilizando Apo C-II como cofactor. Favorece la generación de precursores de HDL.	Tejido adiposo Pared endotelial Pulmón
CETP	Intercambia ésteres de colesterol por triglicéridos entre las HDL ₂ y las lipoproteínas que contienen apo B.	Tejido adiposo, hepático, intestino delgado.
PLTP	Transferencia de fosfolípidos entre LRTG y HDL. Remodelación de las HDL.	Hígado y endotelio
RECEPTORES Y PROTEÍNAS MEMBRANALES		
SR-B1	Receptor para las HDL para intercambiar colesterol entre los hepatocitos y las células.	Hepatocitos , macrófagos.
ABCA1	Modulación del eflujo de colesterol y fosfolípidos. Favorece la maduración de HDL.	Hígado Macrófagos Intestino

Tabla 3. Enzimas y proteínas involucradas en el metabolismo de las lipoproteínas LCAT=Lecitina colesterol acilo-transferasa; PON 1= paraoxonasa 1; LH= Lipasa Hepática; LPL= Lipasa lipoproteica; PLTP= Proteína Transportadora de fosfolípidos; SR-B1: Receptor scavenger clase B1 (scavenger receptor class B1) ABCA1: transportador dependiente de ATP(ATP-binding cassette transporter). Qm: quilomicrones; VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad, IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad. LRTG: Lipoproteínas ricas en triglicéridos.

Lecitina colesterol acilo transferasa (LCAT).

Esta enzima cataliza la esterificación del colesterol y es responsable de la mayor parte de colesterol esterificado (CE) encontrado en el plasma humano. Pertenece a la clase de las enzimas hidrolíticas de tipo serina esterases. Se le atribuye un papel antiaterogénico, ya que

el CE aparentemente crea un gradiente necesario para el flujo de colesterol libre (CL) desde los tejidos hasta el hígado.

La LCAT cataliza la transferencia de un grupo acilo de un ácido graso preferentemente de la posición SN-2 de la lecitina al grupo 3-hidroxilo del colesterol, produciendo de esta manera ésteres de colesterol y lisolecitina (lisofosfatidilcolina).

La esterificación de colesterol libre esta muy asociado con la remodelación de las subpoblaciones de las HDL y con la formación de las partículas HDL₂.

Proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP).

La PLTP es un factor plasmático que regula la composición y el tamaño de las HDL y juega un papel importante al afectar los niveles de colesterol-HDL (C- HDL) en plasma (una actividad PLTP alta se asocia con un aumento del C-HDL). La PLTP realiza la transferencia neta de fosfolípidos y CL desde las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRTG) hacia las HDL.

METABOLISMO DE QUILOMICRONES.

Los lípidos alimenticios se componen principalmente de mezclas de triglicéridos mixtos. Después de su ingestión en la dieta, los triglicéridos son hidrolizados principalmente en la luz intestinal por acción de las enzimas pancreáticas y la contribución de las sales biliares. De esta manera, se libera colesterol (CL) y ácidos grasos, los cuales se absorben hacia el interior del enterocito. Una vez dentro de éste, son reesterificados para formar triglicéridos (TG) y colesterol esterificado (CE). Los quilomicrones se ensamblan a las células de la mucosa intestinal a partir de los TG, el colesterol (proveniente de la dieta, de la bilis y de

síntesis de novo) y de la apo B-48. Los quilomicrones pasan a los conductos quilíferos del intestino y se dirigen por el conducto linfática torácico a la vena subclavia, para llegar finalmente a la circulación general⁸.

La hidrólisis de los TG presentes en los quilomicrones, se lleva a cabo principalmente en los capilares del tejido adiposo y del músculo estriado. Esta hidrólisis es catalizada por la LPL, la cual se encuentra unida a las células endoteliales de la pared vascular.

El quilomacrón, al perder TG, disminuye de tamaño, transformándose finalmente en un remanente de quilomacrón, pobre en TG y con alta proporción de CE y apo E que recibieron de las HDL. La monocapa de la superficie formada por fosfolípidos y CL se transfiere a las HDL por medio de la PLTP. La apo E permite al quilomacrón ser captado por los receptores apo B/E, que están presentes en el hígado, lugar donde los remanentes son internalizados para ser catabolizados⁹.

METABOLISMO DE LAS VLDL.

Las VLDL son sintetizadas en el hígado a partir de TG, pequeñas cantidades de fosfolípidos, colesterol, las apo B-100 y las apo-C's. Cada VLDL naciente contiene una sola copia de apo B-100, pero al entrar en la circulación, las VLDL adquieren apo C-II de las HDL y son sometidas a hidrólisis parcial por la LPL, mientras esto sucede, los lípidos de la monocapa de superficie son transferidos por la PLTP a las HDL. Por medio de un mecanismo similar al del remanente de quilomacrón, las VLDL se transforman en remanentes de VLDL o IDL, enriquecidas en colesterol y apo E obtenidos por intercambio con las HDL.

Algunas IDL se unen a receptores hepáticos apo B/E, para ser internalizadas y catabolizadas en el hepatocito. El resto de las IDL permanecen más tiempo en circulación, al pasar por la circulación hepática, la LH hidroliza los TG para convertirlas en LDL.

METABOLISMO DE LAS LDL.

La hidrólisis de los TG de las VLDL da origen a las LDL¹⁰, que consisten de un núcleo lipídico compuesto casi exclusivamente por CE. El revestimiento superficial de las LDL contiene CL, fosfolípidos y sólo una molécula de apo B-100.

Estas lipoproteínas transportan el mayor porcentaje de colesterol en el organismo. Las LDL pueden ser eliminadas de la circulación por el hígado o por los tejidos extrahepáticos. Aproximadamente un 75% de las LDL séricas son eliminadas por el hígado, mientras que el 25% restante es eliminado por tejidos extrahepáticos. Su principal mecanismo de eliminación es la endocitosis a través del receptor apo B/E, para el cual apo B-100 es el ligando.

Cuando los receptores de las LDL fijan las LDL circulantes (o las VLDL remanentes), los complejos receptor ligando se internalizan y se fusionan con los lisosomas. Posteriormente a la internalización, los receptores se disocian de las LDL y son reciclados a la superficie de la célula para ser utilizados de nuevo o son catabolizados en los lisosomas por proteasas. El CE de LDL se hidroliza en CL y la apo B-100 se degrada en aminoácidos. La cantidad de colesterol que entra en la célula tiene tres efectos importantes:

- Disminuye la actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa), enzima que controla en gran medida la biosíntesis de novo del colesterol

endógeno¹¹.

- Aumenta la actividad de la colesterol acilo transferasa intracelular, que esterifica el CL.
- Disminuye la tasa de síntesis de receptores para apo B-100.

Este último evento evita la acumulación de colesterol en el interior de las células¹².

II. II LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL).

II. II.1 CARACTERÍSTICAS Y CLASIFICACIÓN.

Las HDL abarcan una clase heterogénea de Lp que tienen en común una densidad de flotación entre 1.063-1.21 g/mL y un tamaño (diámetro de Stoke's) de 7.2 a 12nm⁴. Lo anterior es debido a que son las lipoproteínas con menor proporción de lípidos y mayor proporción proteica (55-60% de su masa seca), siendo la apo A-I la más abundante (65% de su masa proteica total). La apo A-I, a parte de su función estructural es indispensable para el flujo de colesterol desde las células periféricas¹³. La apo A-II es la segunda apo estructural en abundancia de las HDL, representa del 20% al 30% de la masa proteica total. Además las HDL contienen pequeñas cantidades de apo C's (apo C-I, apo C-II y apo C-III), apo E y apo A-IV, así como cantidades mínimas de proteínas asociadas a PLTP, LCAT y PON.

Diferencias cuantitativas y cualitativas en el contenido de apolipoproteínas, enzimas y proteínas de transferencia de lípidos dan lugar a varias subclases de HDL. Dichas subclases se caracterizan por diferencias en forma, densidad, tamaño, movilidad electroforética y composición química. Una subclasificación con base en la densidad de flotación, las

distingue en HDL₂ ($\delta = 1.063-1.12$ g/ml) y HDL₃ ($\delta = 1.12-1.21$ g/ml). Las HDL₂ son ricas en lípidos no anfipáticos mientras que las HDL₃ están formadas por fosfolípidos y proteínas, principalmente. La electroforesis en gel de agarosa, separa las HDL en función de su carga y de su tamaño en partículas con migración α y en una subpoblación pequeña con migración pre- β ¹⁴. Estas últimas, al realizar una electroforesis en segunda dimensión en gradiente de poliacrilamida, se separan en tres grupos de partículas; pre- β 1, pre- β 2 y pre- β 3; en orden creciente de tamaño. Por otra parte, usando cromatografía de inmunoafinidad (basada en diferencias inmunoquímicas entre las partículas de HDL) se obtienen dos subpoblaciones: partículas HDL que contienen apo A-I y apo A-II (Lp A-I: A-II) y partículas con solo apo A-I (Lp A-I)⁷. No existe una correspondencia exacta entre cada una de las diferentes subclasificaciones.

II .II .2 SUBCLASIFICACIÓN BASADA EN LOS TAMAÑOS.

La diversidad estructural de las HDL es bien establecida especialmente en términos de la distribución de tamaños. Dicha distribución de tamaños se consigue mediante electroforesis nativa de poliacrilamida con un gradiente del 4-30% (PAGGE) en condiciones no desnaturizantes y permite una subclasificación más fina de las partículas HDL.

Tabla 4. Subclases de partículas HDL definidas en base a su tamaño.

Subclases	Rango de tamaño
HDL 2b	9.71-12.9
HDL 2a	8.77-9.71
HDL 3a	8.17-8.77
HDL 3b	7.76-8.17
HDL 3c	7.21-7.76

El uso de la técnica anterior es combinación con la densitometría se ha empleado en la separación, caracterización y estimación de cada una de las diferentes subclases anteriores¹⁵.

II.II.3 IMPORTANCIA DE LAS HDL.

Los resultados obtenidos en diversos estudios epidemiológicos han demostrado que hay una correlación negativa entre la concentración de C-HDL y el riesgo de desarrollar EAC¹⁶⁻¹⁸.

Los mecanismos exactos por los cuales las HDL son ateroprotectoras se desconocen aún, aunque varias hipótesis se han postulado para explicarlo, siendo las más importantes las siguientes:

- La participación de las HDL en el transporte reverso del colesterol (TRC), que se define como el regreso del colesterol proveniente de las células periféricas hacia el hígado para su excreción o reciclaje¹⁹.
- Las propiedades antioxidantes de las HDL asociadas a la PON1^{20,21} y la actividad antioxidante intrínseca de apo A-I²².

- Regulación negativa por parte de las HDL para la expresión de las moléculas de adhesión celular VCAM-1 e ICAM-1 en la superficie del endotelio vascular, lo que se traduce en un efecto antiinflamatorio ²³.
- Inhibición de la agregación plaquetaria con propiedades antitrombóticas ²⁴.
- Protección de la actividad de la óxido nítrico sintetasa frente a las LDL oxidadas, ayudando aparentemente a mantener las funciones normales de los vasos sanguíneos ²⁵.
- Posible promoción del eflujo de colesterol, debida a una regulación positiva en la expresión del ABCA-1.

De las hipótesis anteriores, el mecanismo del TRC ha sido el que ha ganado una mayor aceptación.

II. II .4 METABOLISMO DE LAS HDL (TRC).

El hígado secreta unas partículas de forma discoidal llamadas “HDL nacientes”, que presentan movilidad electroforética pre- β 1 ^{26,27}. Estas partículas están compuestas esencialmente por fosfolípidos y apo A-I, tienen una masa molar aparente alrededor de 60kD y flotan a una densidad de las HDL₃. Son los receptores primarios que captan el excedente de colesterol libre proveniente de las células periféricas (tejidos extrahepáticos).

La primera etapa del TRC es el eflujo del colesterol de las células. Este eflujo de colesterol es el resultado tanto de procesos pasivos e inespecíficos, como de procesos activos y específicos. Entre los mecanismos postulados de eflujo de colesterol celular se encuentra el mediado por la proteína ABCA-1 ²⁸, así como la difusión pasiva de colesterol libre a través

de la fase acuosa entre la membrana plasmática y las partículasceptoras. El colesterol captado por las partículas pre- β 1 es esterificado inmediatamente por la LCAT. Esta esterificación hace que el colesterol pierda su carácter anfipático transformándose en una molécula netamente hidrofóbica. En consecuencia, el CE abandona la superficie de la lipoproteína y migra hacia el interior hidrofóbico de la partícula, aumentando el tamaño de la misma y transformándose en una partícula más esférica. En su forma esférica más pequeña, las HDL se denominan HDL₃. Sin embargo, la HDL₃ continua captando mas CL, que a su vez se esterifica a través de la acción de la LCAT, este proceso da lugar a un aumento de tamaño y disminución de la densidad, lo que produce en consecuencia HDL₂ ricas en CE ²⁹. A su vez las HDL₂-CE se convierten en HDL₂ ricas en TG intercambiando CE por TG provenientes de Lp que contienen apo B, principalmente VLDL e IDL, que a cambio reciben CE de las HDL y lo conducen al hígado donde se metaboliza. Los fosfolípidos de las HDL son transferidos hacia las VLDL por la PLTP. Los TG de las HDL₂-TG provenientes de las LRTG son hidrolizados por la LH. Esta hidrólisis, en asociación con la actividad de PLTP, disminuye el tamaño de las HDL₂ transformándolas en HDL₃ y en partículas pre- β 1, regenerando los aceptores primarios que pueden reiniciar el ciclo de captación del colesterol.

Otra vía de eliminación de colesterol plasmático es el receptor SR-B1, que se encuentra principalmente en el hígado ³⁰. Se unen a él con gran afinidad las HDL y las LDL y, por un mecanismo mal conocido, internaliza únicamente el colesterol dejando el resto de la Lp intacta. De esta manera se regeneran las partículasceptoras de colesterol que pueden

comenzar nuevamente el ciclo del TRC, este mecanismo elimina una buena parte de colesterol circulante (Figura 6).

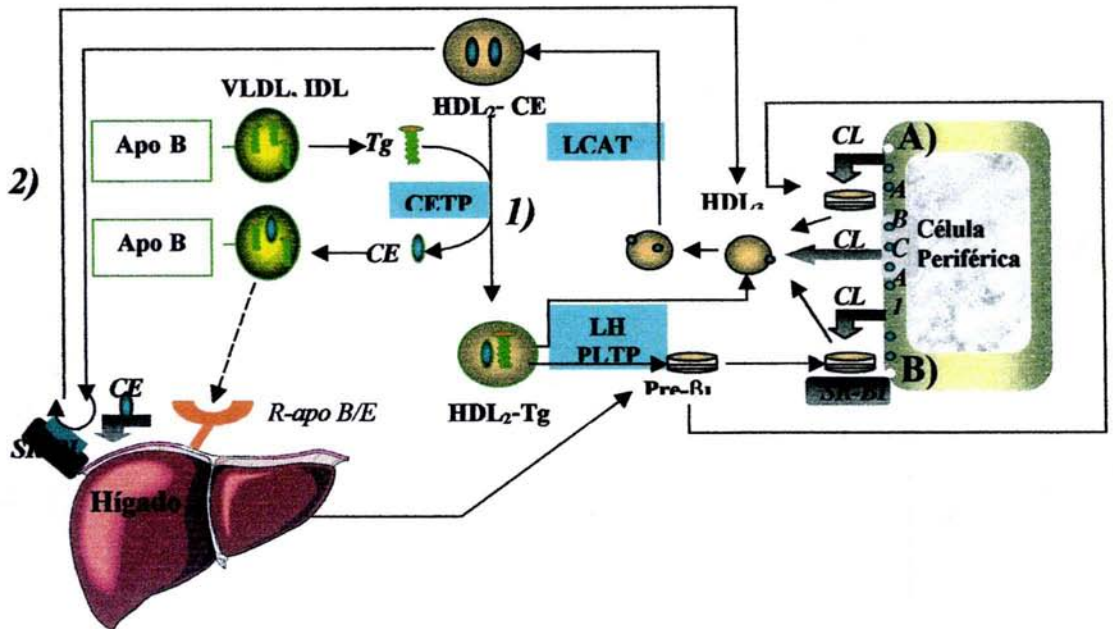


Figura 6. Esquema del metabolismo de las HDL (fase postabsortiva).

Los aceptores primarios (partículas pre-β1 o HDL₃ en menor proporción) captan el CL excedente de las células periféricas por A) simple contacto con la membrana celular, o B) por medio del ABCA-1. La incorporación de colesterol en los aceptores primarios y la esterificación del mismo por la LCAT, dan origen a aumentos progresivos del tamaño de la Lp, generando sucesivamente HDL₃ y HDL₂. El CE puede seguir dos rutas 1) por acción de la CETP es intercambiado por TG provenientes principalmente de VLDL e IDL y, posteriormente, ser transportado al hígado para su excreción o reciclaje, gracias a su captación mediada por el R- apo B/E, o 2) es eliminado directamente de la Lp por un mecanismo mediado por el SR-B1, generando partículas HDL de menor tamaño capaces de reiniciar el ciclo. La LH hidroliza los TG de las HDL captados por la ruta 1. Esta hidrólisis en asociación con la actividad PLTP, regenera los captos primarios de colesterol.

II .II .5 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HDL

La hipoalfalipoproteinemia se define como concentraciones plasmáticas de colesterol HDL por debajo de la máxima porcentual ajustada a la edad y sexo del sujeto. La cantidad de HDL es importante, pero la velocidad con que realizan sus funciones lo es aun más. La figura 7 presenta los diferentes mecanismos para explicar el papel antiaterogénico de las HDL.

Las LDL oxidadas en el espacio subendotelial intervienen en la formación de la placa ateromatosa por sus cualidades proinflamatorias. Por tanto, el papel antiaterogénico de las HDL se debe en parte a la capacidad antioxidante que poseen. Varios de sus elementos participan en esta propiedad, entre ellos sus apolipoproteínas y particularmente la paraoxonasa (PON 1), enzima asociada físicamente a las HDL plasmáticas³¹.

Se ha demostrado que las HDL₃, es decir las HDL de menor tamaño son los mejores aceptores plasmáticos de la paraoxonasa que originalmente se encuentra unida a la membrana del hepatocito. Se ha considerado que la captación de PON se lleva a cabo principalmente en las HDL pequeñas y que estas sufren modificaciones a su paso por la vía del transporte reverso del colesterol hasta transformarse en HDL de tamaños mayores (HDL₂), siendo estas las que se encuentran en mayor proporción en circulación^{38,39}.

Además, se ha asociado a la paraoxonasa con la incidencia de enfermedad aterosclerosa coronaria³¹⁻³⁴. Las bases moleculares que explican la relación inversa entre la PON1 y la aterosclerosis, se han ubicado en la capacidad que posee la enzima de eliminar los lipoperóxidos.

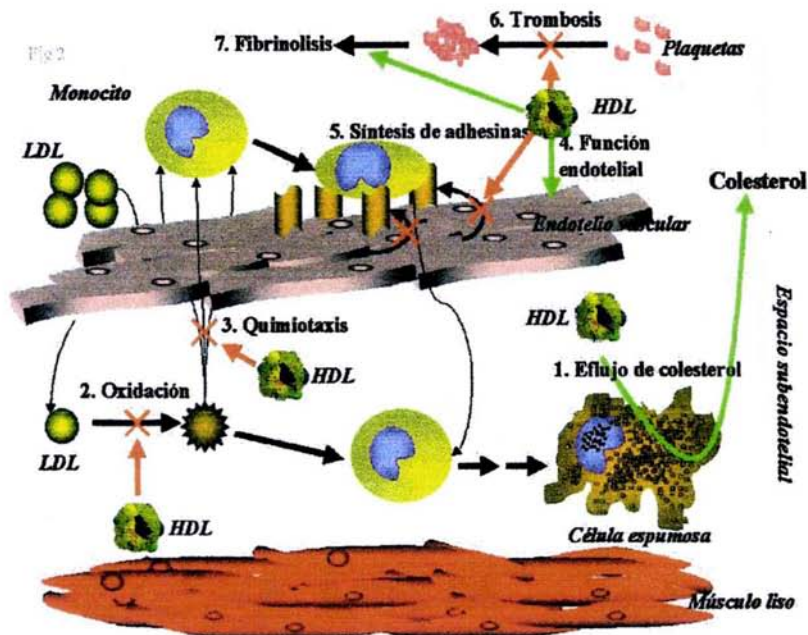


Figura 7. Resumen de los efectos antiaterogénicos de las HDL.

Las flechas punteadas y las cruces indican efectos inhibitorios. Las flechas continuas que se originan en las HDL son indicativas de propiedades que favorecen el proceso. Las HDL promueven el eflujo de colesterol de los macrófagos y células espumosas (1) que se encuentran en el espacio subendotelial durante las primeras etapas de la formación del ateroma. Poseen además propiedades antioxidante (2), inhiben la quimiotaxis promovida por las LDL oxidadas (3), favorecen la producción de óxido nítrico por las células endoteliales (4), regulan la síntesis de adhesinas en endotelio vascular (5) y presentan propiedades antitrombóticas (6) y profibrinolíticas (7).

II.II.6 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA PARAOXONASA (PON1).

El gen PON1 está localizado en el brazo largo del cromosoma 7, contiene 9 exones y 8 intrones que se extienden entre 25 y 26 kb. La expresión del gen PON1 da origen a una glicoproteína de 354 aminoácidos y de masa aparente entre 43 y 45 kD³⁵.

La PON 1 es una enzima que pertenece a la familia de las esterasas aromáticas tipo A, dependiente de calcio y posee especificidad muy amplia sobre diferentes compuestos no naturales: arilésteres, lactonas y fosfatos mono, di y tri esterificados. Esta enzima se sintetiza en el hígado y queda anclada a la membrana gracias a la interacción de su región N-terminal con los fosfolípidos de la membrana del hepatocito. Sin embargo, no existen reportes en los que se describa actividad PON1 en compartimentos diferentes del plasma sanguíneo¹.

Para que PON1 abandone la membrana del hepatocito hacia su destino final, el plasma debe contener un aceptor formado por compuestos anfipáticos (detergentes no iónicos o fosfolípidos), organizado en micelas o bicapas anfipáticas y que posea una tensión superficial adecuada. *In vivo*, este aceptor son las HDL y como consecuencia de esta asociación, la paraoxonasa es transportada en el plasma por las HDL además de ser dirigida por las mismas hacia los espacios subendoteliales en los que llevará a cabo su función antilipoperoxidos.

Uno de los sustratos más utilizados para el estudio de la enzima es el paraoxón (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfosfato), un potente inhibidor de las colinesterasas. Históricamente, fue el primer compuesto con el que se puso de manifiesto la existencia de la enzima y de él deriva

su nombre. Otro de los sustratos no naturales que se ha utilizado extensivamente para el estudio de la PON1 es el fenilacetato³⁶⁻³⁸.

Al ser utilizados ampliamente estos dos sustratos, se ha adoptado el termino “actividad de paraoxonasa” cuando se usa paraoxón como sustrato de la PON1; de la misma manera, cuando se utiliza fenilacetato, se hace referencia a la “actividad arilesterasa” de la PON1.

Recientemente, se ha reportado que la PON1 en las HDL puede bloquear la respuesta inflamatoria contribuyendo así a la prevención de la oxidación de las LDL.

II .III ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis coronaria es la primera causa de mortalidad y morbilidad además de ser uno de los problemas más importantes de salud pública en México. Por lo anterior es importante comprender la fisiopatología de la enfermedad para poder prevenirla.

La aterosclerosis es un proceso crónico, degenerativo e inflamatorio de la pared vascular de las arterias grandes³². Las primeras lesiones de la aterosclerosis se inician como respuesta a una forma de lesión del endotelio arterial que comienzan en la infancia y la adolescencia con la formación de las estrías grasas. La estría grasa consiste en una acumulación de lípidos (principalmente colesterol) dentro de macrófagos que los transforma en “células espumosas” en la íntima de la arteria.

El endotelio disfuncional presenta una permeabilidad alterada permitiendo una mayor entrada y acumulación de LDL en la matriz subendotelial (íntima). En este sitio las cadenas alifáticas de los fosfolípidos de las LDL son susceptibles a la peroxidación lipídica mediada

por especies oxidantes reactivas (ROS), provenientes de macrófagos, células musculares lisas o del endotelio vascular^{40,41}. Los lipoperóxidos formados son compuestos ligeramente oxidantes, pero pueden dar lugar a compuestos fuertemente oxidantes que alteran la estructura de las LDL llamadas LDL oxidadas (LDLox).

Las LDL oxidadas (LDLox) en el espacio subendotelial intervienen en la formación de la placa ateromatosa por sus actividades quimiotáctica y quimioestática que fomentan la invasión monocitaria de la íntima, la formación de nuevas células espumosas⁴² (Figura 8) y así sucesivamente.

En la íntima, los macrófagos derivados de monocitos captan las LDLox, vía receptores inespecíficos con independencia de su contenido de colesterol. Esto conduce a la formación de numerosas gotitas de lípidos (colesterol principalmente) que dan a la célula un aspecto espumoso, de donde proviene el nombre de célula espumosa. La mayoría de las células espumosas derivan de los macrófagos, pero algunas provienen de las células del músculo liso. La acumulación de células espumosas en la íntima da resultado a la formación de estrías grasas.

El colesterol no puede ser degradado por las células sanguíneas o musculares, por lo que es necesario su transporte hacia el hígado para su eliminación o reciclaje. La acumulación continua de lípidos dentro de la íntima, aunado a la proliferación de músculo liso y del tejido conectivo forma placas elevadas (ateromas). En la etapa media de la vida, las placas ateromatosas pueden sufrir diversas alteraciones (ruptura, hemorragia, ulceración, trombosis o calcificación), algunas de las cuales producen oclusión, isquemia y enfermedad clínica como son el infarto de miocardio, la enfermedad cerebro vascular y la angina de

pecho. A continuación se mencionan los principales factores de riesgo para desarrollar aterosclerosis:

No modificables; edad, género (masculino) y predisposición genética.

Modificables; tabaquismo, alcoholismo, sedentarismo y dieta inadecuada.

Controlables; obesidad, hipertensión arterial, diabetes mellitus, intolerancia a la glucosa (ITG), síndrome metabólico y dislipidemia⁴³.

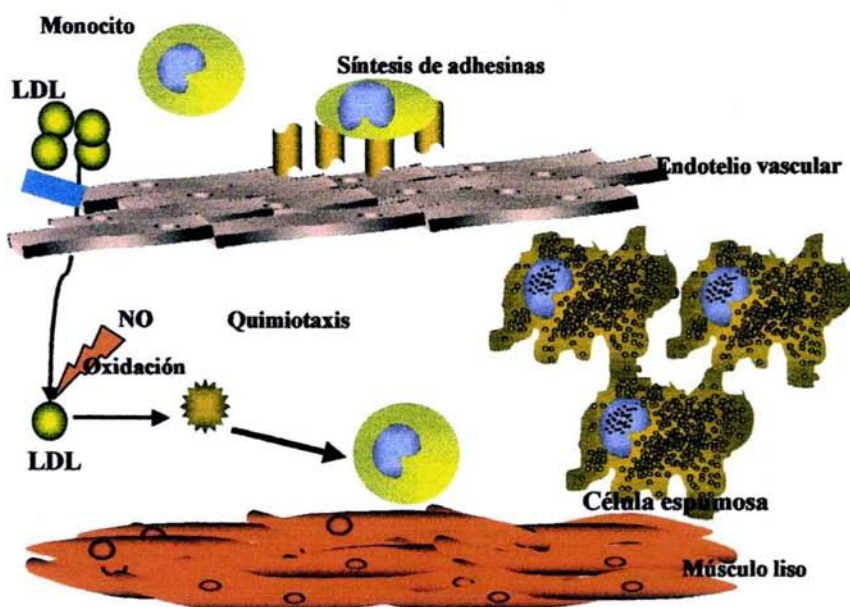


Figura 8. Generación de células espumosas

Las LDL que entran al espacio subendotelial son blanco de la oxidación por radicales libres, generando LDL oxidadas que son reconocidas y fagocitadas por los macrófagos. El enzima paraoxonasa (PON) inhibe la oxidación de lípidos por los radicales libres.

II.IV EL AGUACATE

El aguacate (*Persea gratissima*, *Persea americana*) es el fruto del árbol del mismo nombre originario de Mesoamérica, que abarca las regiones de México y Guatemala. La palabra aguacate deriva de la lengua náhuatl “aoacatl” o “ahuacatl”.

Los arqueólogos han demostrado que desde hace unos 7 000 años, los antiguos mexicanos ya tenían en su dieta cotidiana este fruto, era muy apreciado por su fino aceite, mismo que en la actualidad los químicos de nuestro siglo han demostrado que es rico en ácidos grasos monoinsaturados. El aguacate además tiene un alto contenido de proteínas, hidratos de carbono, vitaminas y minerales, así como un bajo contenido de sodio y calcio.

México es el mayor productor de aguacate en el mundo, gracias al fomento de este cultivo que se inició en Michoacán desde 1932 con fines de explotación extensiva. El cultivo del aguacate se fue extendiendo por todas las regiones tropicales y semitropicales del país en forma de huertos familiares y comerciales, de tal manera que en la actualidad, Michoacán es la región que mayor cantidad de aguacate produce en el país.

A partir de los años 60's el aguacate empieza a ser cultivado en los Estados Unidos, así como en otros países que cuentan con regiones propicias para este cultivo, como Israel, Sudáfrica, Argentina y, en últimos años, Nueva Zelanda.

II.IV.1 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

El aguacate es una dicotiledónea perteneciente al orden de las Ranales y a la familia de las Lauráceas. Los estudios sistemáticos han clasificado más de 500 variedades de aguacate, de las cuales se han seleccionado algunas para la creación de variedades comerciales.

El hábitat del árbol corresponde a las características ecológicas de las especies subtropicales cuyo crecimiento y desarrollo es variado. En su hábitat natural puede alcanzar una altura de 10 a 12 metros. Su tallo leñoso presenta también un vigoroso crecimiento vegetativo, en árboles de 25 a 30 años se han encontrado troncos con diámetros de 80 cm a 1 metro. La mayoría de las variedades comerciales en los países productores, como México, Estados Unidos, Nueva Zelanda y las Islas Canarias se han clasificado en un acuerdo prácticamente general con los científicos, en tres razas básicas: la mexicana, la guatemalteca y la antillana⁴⁴.

II.IV.2 VALOR NUTRITIVO

El aguacate puede considerarse alimento completo, por que su valor calórico está acompañado de principios nutritivos esenciales en cantidades considerables. En la tabla 6 se presentan las vitaminas que contiene el aguacate por cada 100g de porción comestible que es más del 50% del fruto o verdura, como algunos lo han clasificado, así como una relación comparativa de su contenido con las recomendaciones nutrimentales promedio diarias para un adulto⁴⁵.

TABLA 6. VALOR VITAMÍNICO Y APOORTE NUTRICIONAL DEL AGUACATE.

VITAMINAS	CONTENIDO EN 100g	RDA	% DE RDA CUBIERTA POR 100g
Vitamina A	85.00 µg	900.0 µg	9.4
Vitamina D	10.00 µg	5.0 µg	200.0
Vitamina E	3.00 µg	9.0 mg	33.0
Vitamina K	8.00 µg	110.0 µg	7.3
Vitamina B1	0.11 mg	1.4 mg	7.8
Vitamina B2	0.20 mg	1.6 mg	12.5
Vitamina B6	0.45 mg	2.1 mg	21.4
Niacina	1.60 mg	16.0 mg	10.0
Ácido Pantoténico	1.00 mg	5.5 mg	18.2
Biotina	10.00 µg	100.0 µg	10.0
Ácido Fólico	32.00 µg	200.0 µg	16.0
Vitamina C	14.00 µg	60.0 mg	23.3

mg= miligramos, µg = microgramos, RDA= recomendación de ingesta diaria para un adulto.

De acuerdo con estas características se desprende que cada 100g de aguacate contienen 12 de las 13 vitaminas más importantes, puesto que la vitamina B12 está ausente en los vegetales. Contiene cantidades significativas de todas las vitaminas liposolubles, poniéndose en situación de privilegio con respecto al resto de los alimentos vegetales que, en su mayoría poseen predominio de algunas y escasez de otras. Aporta vitaminas liposolubles sin colesterol y con mínima cantidad de ácidos grasos saturados. Proporciona vitaminas hidrosolubles en cantidades apreciables, destacándose su contenido de ácido ascórbico.

El aguacate presenta una relación favorable entre ácidos grasos insaturados y vitamina E, este análisis califica al aguacate como una excelente fuente de vitaminas, ya que las contiene en cantidad, calidad y armonía, siendo excelente para su aprovechamiento en el organismo humano⁴⁵.

COMPOSICIÓN QUÍMICA POR 100g DE AGUACATE

PORCIÓN COMESTIBLE (%)	53.00
ENERGÍA (KCal)	144.00
LÍPIDOS	
Grasas totales (g)	13.5
Colesterol (mg)	0.00
Saturados totales (g)	2.44
Monoinsaturados (oleico) (g)	8.97
Polinsaturados (Linoléico) (g)	1.84
MINERALES	
Calcio (mg)	24.00
Fósforo (mg)	42.00
Hierro (mg)	0.50
Magnesio (mg)	45.00
Sodio (mg)	4.00
Potasio (mg)	604.00
Zinc (mg)	0.42
VITAMINAS	
Retinol (µg)	200.00
Ácido ascórbico (mg)	14.00
Tiamina (mg)	0.09
Riboflavina (mg)	0.14
Piridoxina (mg)	0.28
Ácido fólico (µg)	62.00
Cobalamina (mg)	0.00
PROTEÍNA (g)	1.60
HIDRATOS DE CARBONO (g)	7.60
FIBRA (g)	2.50
HUMEDAD (%)	74.00

El aguacate es un alimento rico en potasio y pobre en sodio, relación favorable para el control de la presión arterial y la disminución de la susceptibilidad a ciertas enfermedades cardiovasculares⁴⁵

El contenido de cobre es significativo, integrándose al grupo de alimentos fuente de este mineral; 100g de porción comestible aportan aproximadamente 21% de los requerimientos diarios promedio para adultos. Cabe recordar que el cobre es indispensable en el metabolismo del hierro en la síntesis de hemoglobina, melanina y proteínas del tejido conectivo. Su deficiencia también se asocia con trastornos cardíacos y neurológicos.

El aguacate también es fuente de manganeso, micronutriente esencial para el normal funcionamiento del encéfalo y el metabolismo de los carbohidratos. Aporta una apreciable cantidad de magnesio, catión intracelular que participa en el metabolismo de glúcidos, lípidos, prótidos y calcio, en el equilibrio ácido-base y procesos de oxidoreducción; la deficiencia de magnesio esta asociada a varios trastornos , algunos de ellos muy frecuentes, como los gastrointestinales.

Si bien posee escaso contenido de calcio, su absorción es óptima por la presencia de vitamina D y ausencia de ácido oxálico, en cuanto al hierro se ve favorecida su absorción porque el aguacate contiene vitamina C.

Por ser un alimento que se consume crudo no sufre pérdidas de minerales por dilución o cocción, como puede ocurrir con la papa, la calabaza ,u otras legumbres.

II.V. AGUACATE Y ATEROSCLEROSIS

La relación entre los niveles séricos de colesterol y la frecuencia de cardiopatía isquémica se encuentra bien establecida, así como también la estrecha dependencia que tienen los niveles de lípidos plasmáticos con el tipo y la cantidad de grasa que se consume en la dieta habitual. A este respecto se conoce que en países con un alto consumo de grasas monoinsaturadas y baja ingesta de grasas saturadas, la población tiene una prevalencia de cardiopatía isquémica muy baja, en comparación con países cuyo consumo de ácidos grasos saturados es mayor. El ácido graso monoinsaturado que desde el punto de vista epidemiológico y experimental ha demostrado ejercer un efecto benéfico sobre el perfil lipídico es el ácido oleico, un ácido graso monoinsaturado de 18 carbonos cuya fuente natural más conocida es el aceite de oliva.

Una de las causas del brote de cardiopatía isquémica en nuestro país es al parecer, un cambio en nuestros hábitos dietéticos que tienden a parecerse más a la alimentación de los países altamente desarrollados, es decir, un exceso en el consumo de grasas saturadas de origen animal. Al analizar su contenido de ácidos grasos del aguacate se encuentra que su principal componente es el ácido oleico, inclusive en una mayor proporción que el aceite de oliva y casi no contiene ácidos grasos saturados⁴⁷. En la tabla 7 se presentan los porcentajes de cada ácido graso que componen el aceite de la pulpa de aguacate⁴⁸.

Tabla 7. CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS EN LA PULPA DEL AGUACATE HASS

Nombre	% ácido graso
Ácido Mirístico	0.24
Ácido Palmítico	17.68
Ácido Palmitoleico	7.23
Ácido Esteárico	1.10
Ácido Oleico	61.62
Ácido Linoléico	12.09

Existen pocos trabajos relacionados con el efecto del aguacate sobre las concentraciones de colesterol y la aterosclerosis. El estudio más antiguo que se conoce es el de Grant, quien informó, en 1960, del descenso de las cifras de colesterol plasmático en humanos asociado a la ingestión de aguacate. Este reporte paso inadvertido y transcurrieron más de 30 años para que aparecieran nuevos informes⁴⁶.

Varios estudios se han realizado sobre el efecto que tiene el aguacate en el perfil lipídico de pacientes con dislipidemias, uno de ellos⁴⁷ manejó dos dietas, una rica en ácidos grasos monoinsaturados (DRCA) principalmente de aguacate, con 30% de calorías totales como grasa, de las cuales un 75% fue aportado por el aguacate, la otra fue una dieta baja en grasas saturadas y en grasa total sin aguacate (DRSA). Después de 4 semanas se observó una reducción de colesterol total y colesterol LDL en ambas dietas. La DRCA produjo un descenso en los triglicéridos y por el contrario la otra los aumento. Además la DRCA produjo un aumento considerable en los niveles de colesterol-HDL, probablemente debido a la gran cantidad de ácidos grasos monoinsaturados del aguacate. Estos resultados sugieren

que los ácidos grasos monoinsaturados pueden ser incluidos en los planes dietéticos para el manejo de pacientes con dislipidemias⁴⁷.

En 1996, otra investigación del mismo grupo^{47,49}, aplicó a pacientes con hipercolesterolemia tres tipos de dietas, vegetariana (70% carbohidratos, 10% proteínas y 20% lípidos), enriquecida con aguacate (60% carbohidratos, 20% proteínas y 20% lípidos de los cuales un 75% se suplieron con aguacate), e ingesta libre (los pacientes comían en su casa y solo se dirigían al comedor del hospital por su dosis de aguacate).

Los resultados demostraron que la dieta con aguacate produce un decremento significativo en la concentración de colesterol-LDL, mientras que con la dieta vegetariana no hubo ningún cambio en la concentración de colesterol total y ni de colesterol-LDL. Además, las tres dietas reducen los niveles de colesterol-HDL, particularmente la vegetariana⁵⁰.

Posteriormente en el 2001, se hace una investigación acerca del aceite de aguacate en la prevención de aterosclerosis experimental inducida con colesterol⁴⁶, en la cual se incluyeron 30 conejos Nueva Zelanda machos, en tres grupos. El primero, de control, recibió únicamente alimento para conejos, el segundo se alimentó igualmente pero se le adicionó colesterol en polvo al 0.5% en relación con el peso, al tercero se le administró lo mismo que al segundo, pero se agregó aceite de aguacate crudo en proporción del 10% de acuerdo con el peso del alimento, por seis meses. Los resultados obtenidos varían dependiendo del tiempo al que se realizaron las determinaciones, pero se demostró que existe una elevación de colesterol-HDL, inducido por el aceite de aguacate una disminución de colesterol-LDL. Estos dos parámetros son los que más se relacionan con el grado de

aterosclerosis, por lo que se propuso que el aceite de aguacate es capaz de proteger al conejo, en una forma muy importante, de la aterosclerosis inducida con colesterol.

III. JUSTIFICACIÓN

La aterosclerosis es la principal causa de mortalidad y morbilidad además de ser uno de los problemas más importantes de salud pública en México. Por lo anterior es importante comprender la fisiopatología de la enfermedad para poder prevenirla. En México la población tiene una predisposición genética de presentar varias formas de dislipidemias, en particular bajos niveles de C-HDL, así como de desarrollar enfermedades cardiovasculares; esto se ha atribuido a hábitos y estilos de vida como son: un consumo alto de calorías, tabaquismo, consumo de alcohol y sedentarismo^{51,52}. Se ha demostrado que la concentración plasmática de C-HDL tiene una correlación negativa con el riesgo de desarrollar enfermedad aterosclerosa coronaria, lo que implica que su aumento en el plasma tiene un papel benéfico en la prevención de la enfermedad, aunque los mecanismos exactos por los cuales las HDL son ateroprotectivas son desconocidos. Estudios *in vitro* han demostrado que tales funciones antiaterosclerosas dependen no solamente de la cantidad de partículas HDL sino de su estructura. Dados los antecedentes presentados, la incorporación del aguacate dentro de la dieta cotidiana podría contribuir de manera benéfica en el perfil lipídico y, en particular, en la remodelación de las HDL.

De los estudios con animales se deduce que el aguacate tiene una influencia en los niveles plasmáticos de C-HDL. Sin embargo los mecanismos y sustancias responsables de los cambios en las concentraciones plasmáticas de colesterol-HDL, así como de las subpoblaciones HDL afectadas, no se han descrito.

La incorporación del aguacate en la dieta cotidiana como fuente principal de grasas, tiene la finalidad de obtener beneficios en cuanto el perfil lipídico de nuestra población y abatir la prevalencia de cardiopatía aterosclerosa.

IV. HIPÓTESIS

- La inclusión de aguacate como fuente de grasas en la dieta, modificará favorablemente el perfil lipídico, aumentando las concentraciones de C-HDL y disminuyendo de manera significativa y simultáneamente los niveles de C-LDL, utilizando ratas como animal experimental.
- Los cambios en las concentraciones de C-HDL estarán asociadas a modificaciones estructurales de las HDL.
- Las modificaciones estructurales de las HDL inducidas por la dieta rica en aguacate se acompañarán de modificaciones de las enzimas plasmáticas, incluyendo un efecto sobre la cantidad de paraoxonasa en circulación.

V. OBJETIVOS

- Establecer el efecto de una dieta suplementada con aguacate sobre el perfil de lípidos en un modelo animal (rata)
- Determinar cuales son los diferentes mecanismos fisiológicos que provocan el aumento en la concentración plasmática de las HDL por la ingesta de aguacate.
- Determinar si hay modificaciones en la estructura y metabolismo de las HDL por efecto del aguacate.

VI. METODOLOGÍA

1) Grupos de estudio.

Se utilizaron 30 ratas Wistar macho, agrupadas en dos categorías; quince ratas entre 320 y 350 g recibieron una dieta isocalórica con sustituyendo un porcentaje de su consumo calórico (70-75 % del consumo total de grasas) con aguacate fresco (DCA).

El grupo control consistió de un lote de 15 ratas con las mismas características que el grupo de estudio, alimentadas con su dieta habitual (DH)

2) Recolección de muestras.

Después de 6 semanas de suministrar las dietas, se dejan las ratas en ayuno por 12 horas, aproximadamente, para obtener las muestras sanguíneas. Bajo anestesia con pentobarbital (45 mg / 100g de peso), las ratas se pesaron y se obtuvieron muestras sanguíneas por punción de la aorta abdominal en tubos con heparina (concentración final 20 UI/ml de sangre). Los animales se sacrificaron posteriormente por dislocación cervical.

Para separar el plasma heparinizado del paquete celular, se centrifugo la muestra durante 15 min. a 3 000 rpm a 4°C. Para la determinación del perfil de lípidos y HDL se utilizaron muestras frescas de plasma. El resto de las muestras se separó inmediatamente en alícuotas que se conservaron a -70 °C para la determinación de PLTP, LCAT y PON1.

3) Análisis de laboratorio.

El colesterol total, TG (las concentraciones se expresan en mg/dL) se determinaron mediante métodos enzimáticos colorimétricos (Boehringer-Mannheim, Alemania). El C-HDL fue determinado directamente por ultracentrifugación secuencial con el reactivo de colesterol total. El colesterol LDL es calculado mediante la ecuación de Friedewald:

$$CLDL = \text{Colesterol total} - \text{C-HDL} - (\text{triglicéridos plasmáticos}/5)$$

Los coeficientes de variación de estos métodos son menores al 4%.

4) Separación y caracterización de las HDL.

La determinación de las HDL se determinó de acuerdo a un método descrito por Blanche PJ. et al ⁵⁷, con modificaciones realizadas en nuestro laboratorio.

Del plasma obtenido se tomaron 2 ml, se ajustó a una densidad = 1.019 g/ml con solución KBr sólido y se sometió a una ultracentrifugación de 110 000 rpm durante 2h 10 min. En esta parte primeramente se aislaron las Lp VLDL e IDL. El resto del infranadante, se ajustó a una densidad de 1.063 g/ml con KBr sólido y se sometió a ultracentrifugación a 110 000 RPM por 2h 10 min. En esta parte se separaron las LDL, se determinó el volumen del infranadante y se separó una alícuota de 100 µl (alícuota #1), para determinar posteriormente el C-HDL. El resto del infranadante se ajustó a una densidad = 1.25 g/ml con KBr sólido y se sometió a ultracentrifugación a 110 000 rpm por 2h 35 min. En esta parte se separaron las HDL. La fracción obtenida de las HDL se lavó en un exceso de solución con densidad = 1.25 g/ml y bajo las mismas condiciones de ultracentrifugación.

De esta manera se obtuvieron las HDL sin contaminación de Lp que contienen apo B, obteniéndose del 80% al 85% de la apo AI del total del plasma de las fracciones de HDL, según se verificó por electroforesis PAGGE SDS (Anexo 1 B)⁵³.

Después de llevar a cabo la separación de las HDL por ultracentrifugación, se realizó una diálisis intensa con solución amortiguadora Tris 0.09 M – ácido bórico 0.08 M – EDTANa₂ 3mM, pH = 8.35 (TBE, anexo 7). Posteriormente, se llevó a cabo una electroforesis en gradiente 4-30% de gel de poliacrilamida en condiciones no desnaturizantes, usando como marcadores calibrados en diámetro molecular, proteínas globulares (Tiroglobulina 17.0 nm, catalasa 10.4 nm, lactato deshidrogenasa 8.1 nm y albúmina 7.1 nm; Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, UK; ver anexo 1 A). La cantidad de proteína total se cuantificó por una modificación del método de Lowry (Anexo 8). Las bandas de proteína HDL se tiñeron con azul de Coomasie (Bio-Rad R-250) y el diámetro promedio se determinó por análisis densitométrico (Molecular Analyst Software Versión 1.1, 1994 Bio-Rad), en relación con los marcadores.

Determinación de colesterol HDL

Este se determinó indirectamente midiendo colesterol total en la fracción que se separó en la ultracentrifugación la alícuota #1 que corresponde a CT₁ donde:

$$CT_1 = C\text{-HDL}$$

El colesterol total de la alícuota se determinó mediante métodos enzimáticos y colorimétricos (Boehringer-Mannheim, Alemania), tomando en cuenta las diluciones hechas para la ultracentrifugación.

5) Determinación de la actividad LCAT.

La determinación de las subclases se realizó de acuerdo al método descrito por Chen C. y Albers JJ⁵⁴, con modificaciones realizadas en nuestro laboratorio.

A un tubo de ensaye se le adiciono buffer 235 μ L Tris-HCl, 125 μ L de albúmina sérica bovina libre de ácidos grasos al 2% (w/v, Sigma Chemical St, Louis MO) y 100 μ l de la suspensión de proteoliposomas con colesterol-[³H] (Ver Anexo 2 y 3). Se realizó una preincubación a 37 °C y se adicionaron 15 μ l del plasma problema con el fin de llevar a cabo la reacción de esterificación de la LCAT. La reacción se incubó 1 hora a 37 °C, deteniéndola por adición de 3.74 ml de CHCl₃-MeOH 1:2 (v/v) con 4 μ l de estándares de colesterol libre (cholesterol; Sigma, St. Louis MO) y colesterol esterificado 1mg/ml (cholesteryl myristate; Sigma, St. Louis MO) respectivamente. Se realizó una segunda extracción con 1.25 ml de CHCl₃ y 1.25 ml de H₂O. La fase acuosa se desecho, mientras que el disolvente de la fase orgánica se evaporó con N₂ hasta concentrar el colesterol total (esterificado y no esterificado) en un volumen mínimo. Se llevó a cabo la separación y cuantificación del colesterol marcado mediante cromatografía en capa fina (Aldrich, Milwaukee WI) y empleando como eluyente éter de petróleo, éter etílico y ácido acético en proporción 90: 10: 5. La placa se reveló utilizando yodo sublimado (I₂) como cromógeno, para la identificación del colesterol esterificado y no esterificado de las muestras al compararlas con estándares (Rf de 0.15 y 0.8 respectivamente).

Estas manchas fueron recortadas y raspadas, introduciendo su contenido en viales, adicionando 4 ml de liquido de centelleo (CytoScint, ICN Costa Mesa, CA) para su lectura en el contador de centelleo (Liquid Scintillation Analyzer TRI-CARB 2200CA, Packard).

A partir de estos datos se calculó el porcentaje de colesterol esterificado y la actividad de la enzima en nanomoles de colesterol esterificado por mililitro de plasma en una hora de reacción.

6) Determinación de la actividad PLTP.

Esta técnica permite definir la actividad de la PLTP, que es responsable de transferir los fosfolípidos entre Lp. Determinación de la PLTP; transferencia de fosfatidilcolina-marcada con tritio de liposomas unilaminares (Anexo 5) a las HDL⁵⁵.

Reactividad total

Se mezclaron 10 µl de liposomas marcados, 690 µl de TBS y se midió la radiactividad en 500 µl de la mezcla (después de precipitar los liposomas con heparanato de manganeso).

Muestras

Se mezclaron 10 µl de liposomas marcados, 30 µl de muestra (plasma) y 40 µl de ácido iodoacético, se agitó e incubó 30 min a 37 °C. Para parar la reacción se agregaron 300 µl de heparanato de manganeso (445 UI/ml), 320 µl de TBS, se agitó en vortex durante 10 min, se centrifugó 10 min a 13 000 rpm y se colocaron los tubos en hielo antes de medir la radioactividad en 500 µl de la mezcla.

Blanco

Se mezclaron 10 µl de liposomas marcados, 30 µl de muestra (plasma), 40 µl de ácido iodoacético, se agita y se incuba por 30 min a 4 °C. Lugo se detuvo la reacción agregando 300 µl de heparanato de manganeso (445 UI/ml), 320 µl de TBS, se agitó en vortex durante

10 min, se centrifugo 10 min a 13 000 rpm, se colocaron los tubos en hielo y se cuantifico la radioactividad en 500 μ l de la mezcla.

Para calcular la tasa de transferencia en % se empleo la relación

$$\text{Tasa de transferencia en \%} = \frac{(\text{cpm muestra} - \text{cpm blanco}) (100)}{\text{cpm total}}$$

Estimación de la actividad ARE

La actividad aril estearasa se determina utilizando fenilacetato como sustrato. La hidrólisis del sustrato libera fenol que fue determinado espectrofotométricamente a 270 nm. La mezcla de reacción incluyó 1.00 mmol/L de fenilacetato y 0.9 mM CaCl_2 en 20 mM Tris-HCl, pH 8.0 a 25 $^{\circ}\text{C}$. La cinética de la reacción fue medida en un intervalo de 3 minutos. El coeficiente de extinción molar a 270 nm empleado para el fenol fue de 1310 $\text{mol L}^{-1} \text{cm}^{-1}$. La unidad de la actividad aril-estearasa es equivalente a 1 μmol de fenilacetato hidrolizado por minuto por ml de suero⁵⁶ (Anexo 10).

VII. RESULTADOS

El estudio se realizó con 30 ratas Wistar macho agrupadas en dos categorías; el grupo control de 15 ratas recibió una dieta habitual (DH) y el grupo de estudio, también integrado por 15 animales, recibió la dieta suplementada con aguacate (DCA); Tabla 8.

A término de cinco semanas de suministrar la DCA se observó que la curva de crecimiento de los animales experimentales era igual a la del grupo control como puede apreciarse en la figura 9.

Tabla 8. Dietas utilizadas en el estudio.

	Dieta Habitual (DH) 20 g	Dieta suplementada con aguacate (DCA) 17.5 g + 5g aguacate
Humedad %	10	74.0
Fibra (g)	1.04	0.905
Energía (Kcal.)	68	68.5
Hidratos de carbono (g)	----	0.24
Proteínas totales (g)	4.68	4.175
Grasas totales (g)	1.06	1.5
Colesterol (mg)	5.48	5.2
Calcio (mg)	200	176.2
Fósforo (mg)	125.2	111.65
Hierro (mg)	36.7	34.76
Magnesio (mg)	41.2	38.3
Sodio (mg)	70.4	61.8
Potasio (mg)	220	222.7
Zinc (mg)	1.4264	1.2691
Retinol (mg)	6	10
Acido ascórbico (mg)	-----	0.7
Tiamina (mg)	0.3	0.267
Riboflavina (mg)	0.136	0.126
Niacina (mg)	1.62	1.5125
Piridoxina (mg)	0.118	0.117
Acido fólico (mcg)	102	93.35

Estas dietas se calcularon tomando como base la composición tanto de los pellets como del aguacate, dichas dietas fueron utilizadas durante 5 semanas, las cuales se fueron ajustando de acuerdo a las necesidades de cada animal, tomando en cuenta su crecimiento.

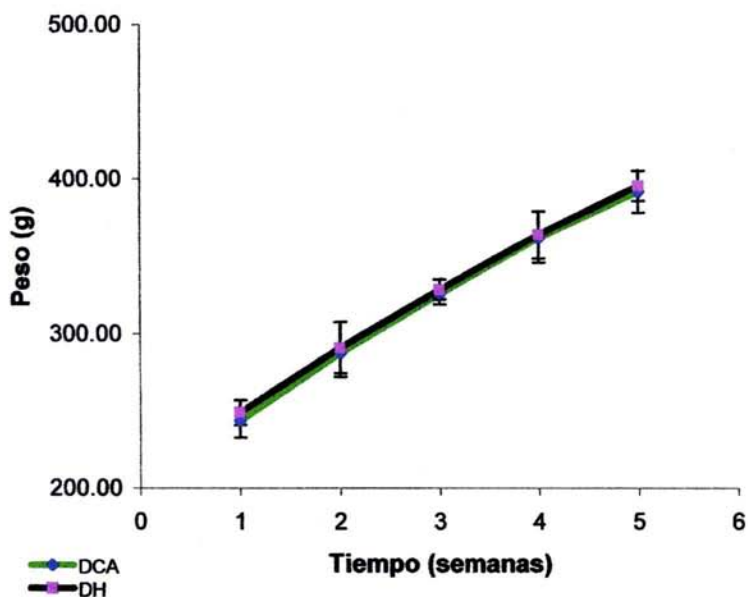


Figura 9. Curva de crecimiento de las ratas sometidas al estudio.

Curvas de crecimiento de los grupos que recibieron la dieta suplementada con aguacate (DCA) y el control (DH). Se indica el promedio \pm DE de cada grupo (n = 15).

PERFIL LIPÍDICO

El promedio del peso de las ratas a las 5 semanas de estudio, así como los perfiles de lípidos de los dos grupos se muestran en la tabla 9. Se puede apreciar que la DCA, en comparación con el grupo control, induce un descenso significativo (27.6%) de los triglicéridos ($p < 0.05$), un aumento significativo en los niveles de C-HDL en un 17.1 %

($p < 0.05$) y una disminución de los niveles de C-LDL (17.4 %), aunque esta última no alcanzó significado estadístico ($p = 0.45$). El colesterol total (CT) no se modifica.

Tabla 9. Peso de los animales y perfil de lípidos de los grupos utilizados en este estudio.

	DH (n = 15)	DCA (n = 15)
PESO INICIAL (g)	249.0 ± 8.0	244.0 ± 11.1
PESO FINAL (g)	395.0 ± 9.8	392.0 ± 13.6
TG (mg/dl)	69.0 ± 25.0	50.0 ± 9.4 *
COLESTEROL (mg/dl)		
TOTAL	73.0 ± 7.0	71.0 ± 10.9
LDL	23.0 ± 9.8	20.0 ± 8.5
HDL	35.0 ± 8.6	41.0 ± 6.7*

Los valores expresan la media ± D.E. * $p < 0.05$, el análisis estadístico se realizó utilizando t de Student.

CARACTERIZACIÓN DE LAS HDL

Tamaño de las HDL.

El aumento en la concentración de colesterol de las HDL sugiere modificaciones en el metabolismo de estas lipoproteínas provocados por la inclusión de aguacate en las dieta. En consecuencia, procedimos a caracterizar las HDL de nuestros grupos de estudio. En la figura 10 se muestra un gel representativo de la determinación del diámetro de las HDL obtenidas mediante electroforesis nativa en gel de poliacrilamida con un gradiente 4% - 30% en condiciones no reductoras. El perfil densitométrico de geles como el mostrado en la figura 10 se muestra en la figura 11. La dieta suplementada con aguacate (DCA) modificó el diámetro de las partículas HDL (**11.71 nm**, figura 11); se observa una disminución

significativa del diámetro del 7.4%, en comparación con el diámetro de las partículas HDL de la dieta habitual (12.65 nm; figura 11), con lo cual la DCA sugiere un posible impacto en la función de las HDL, a través de la modificación de su estructura.

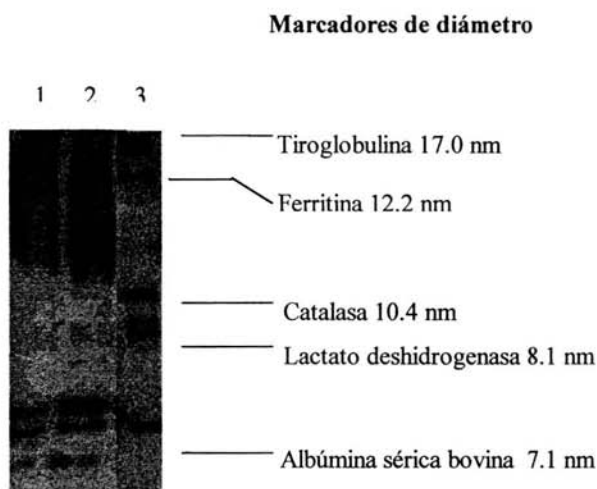


Figura 10 . Gel de poliacrilamida con un gradiente 4%-30%; el carril 3) es de marcadores de radio de Stokes y el carril 1 y 2 es de muestra de HDL aisladas por UCF diferencial; 1 DH; y 2 DCA. Las proteínas se tiñen con azul de Coomasie, la intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad de proteína.

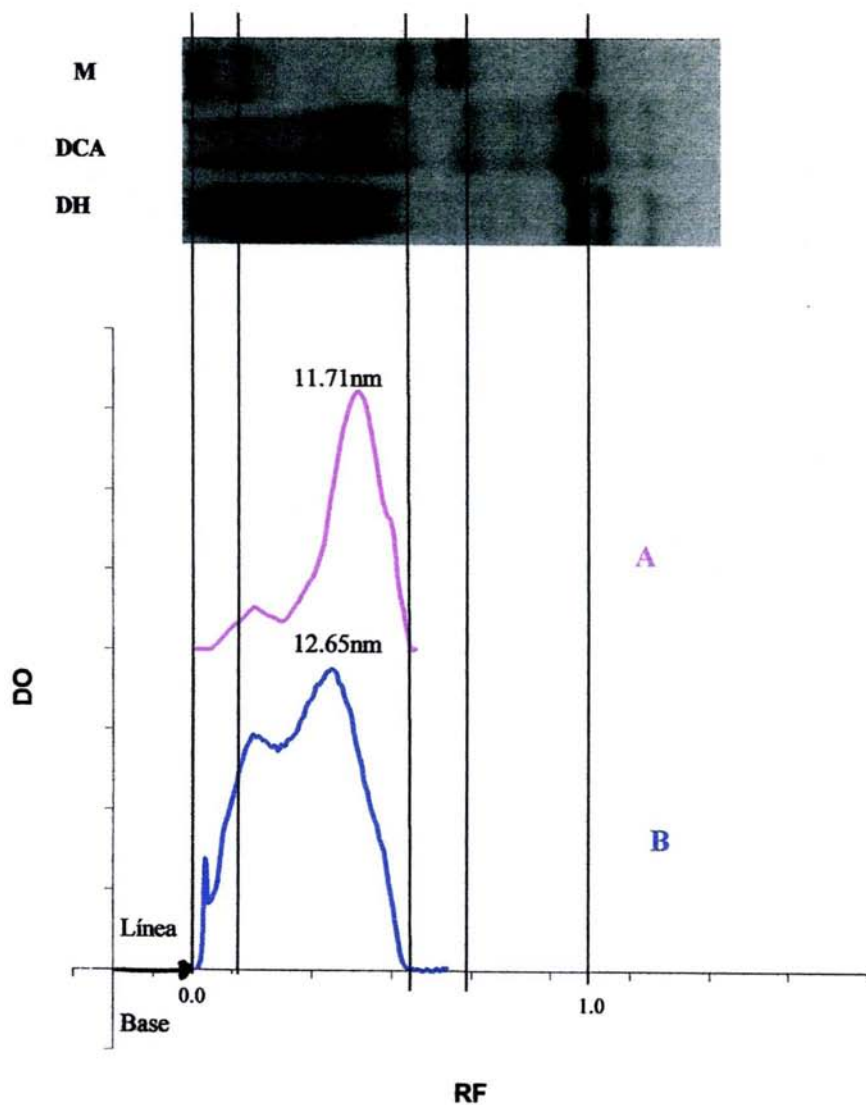


Figura 11. Perfiles densitométricos representativos de la distribución de tamaños de las HDL obtenido mediante PAGE. A) Perfil promedio del tamaño de las HDL de ratas con dieta DCA . B) Perfil promedio del tamaño de las HDL de ratas con DH.

Composición en apolipoproteínas

La composición de apolipoproteínas en las HDL se determinó por medio de una electroforesis SDS PAGGE (ver anexo 1 B)⁵³. Los resultados demuestran que la DCA induce a una reducción significativa del 6.3% en la proporción de apo A-I de las HDL (Figura 12), mientras que las demás apolipoproteínas no sufren ninguna modificación significativa.

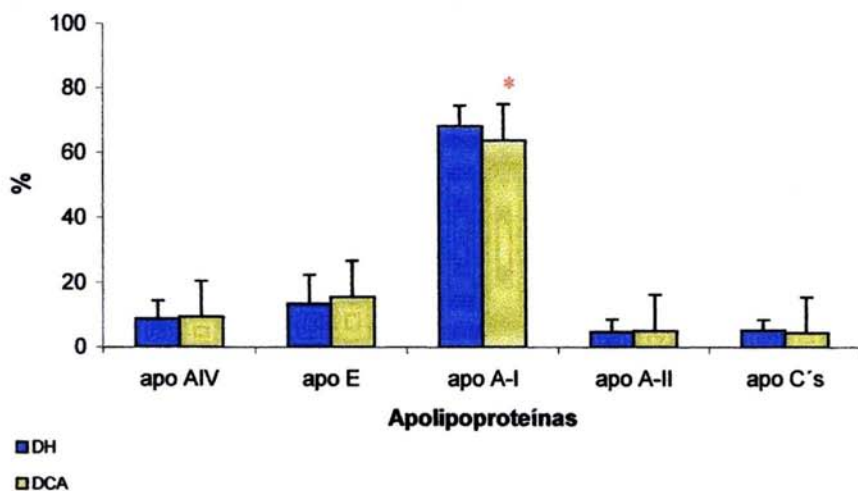
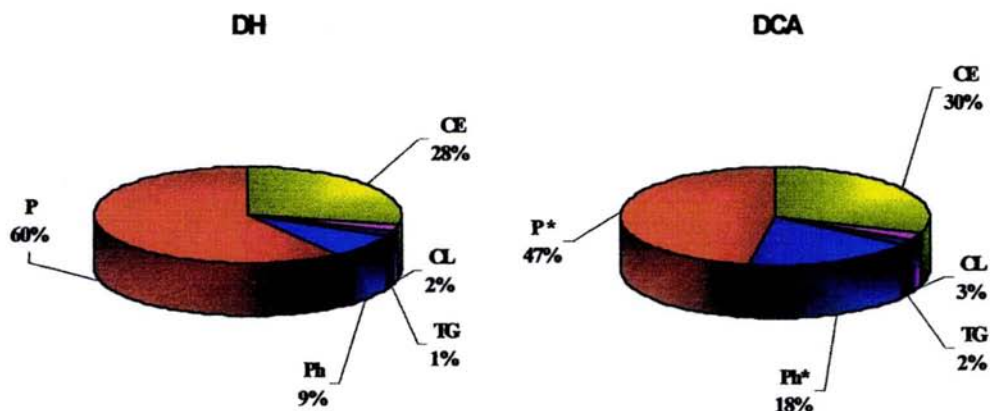


Figura 12. Composición de apolipoproteínas en las HDL del plasma de las ratas en estudio

En esta gráfica se encuentran reportados los contenidos porcentuales promedio de las apolipoproteínas de cada grupo tanto de DH y DCA, así como su correspondiente D. E. * $p < 0.05$, el análisis estadístico se realizó utilizando t de Student.

COMPOSICIÓN DE HDL.

La composición química de las HDL se ve afectada por la ingesta de aguacate en las ratas con DCA; se observa un aumento significativo en los fosfolípidos (Ph, $p < 0.05$) y, simultáneamente, una disminución en la cantidad de proteína (P, $p < 0.05$), como puede verse en la figura 13.



* Prueba T, $p < 0.05$

Figura 13. Composición de HDL.

Composición porcentual promedio de las HDL en el plasma de las ratas en los grupos de estudio, con su correspondiente D.E. * $p < 0.05$, el análisis estadístico utilizado fue t de Student.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Las modificaciones estructurales de las HDL inducidas por la DCA, pueden tener su origen en variaciones de las actividades de las diferentes enzimas y proteínas de transporte que participan en la remodelación intravascular de las HDL. Por esta razón, determinamos dos de ellas, la actividad LCAT y PLTP (Tabla 10).

Tabla 10. Enzimas y proteínas de transferencia asociadas a las HDL de los dos grupos de estudio.

	DH	DCA
N	15	15
PLTP Transferencia (%)	8.7 ± 4.4	9.4 ± 5.3
LCAT Esterificación (%) (nmol de CE h ⁻¹ l ⁻¹)	3.4 ± 0.7 23.5 ± 7.9	3.8 ± 1.6 26.3 ± 15.2
PON 1 Actividad ARE μmol min ⁻¹ ml suero ⁻¹	43.0 ± 5.6	57.4 ± 8.9*

Los valores expresan la media ± D.E. * Prueba t de Student p < 0.05.

La actividad de la PLTP expresada como tasa de transferencia (%) fue semejante entre los dos grupos y la actividad de la LCAT tampoco se modifica con la ingesta de aguacate.

Actividad de la paraoxonasa.

Por otra parte, como se describió previamente, la PON 1 es una enzima que se transporta en plasma asociada físicamente con las HDL. Dicha asociación es dependiente de la tensión de superficie de las HDL y, por lo tanto, depende de la estructura de las mismas. Debido a que la estructura HDL se modifica por la DCA, determinamos la actividades PON1. Los resultados muestran que, efectivamente, la actividad ARE promedio aumenta en un 33.5% en el grupo que recibió la DCA (Tabla 10).

VIII. DISCUSIÓN

La aterosclerosis coronaria es la segunda causa de mortalidad y morbilidad en México. Por lo anterior, es importante comprender la fisiopatología de la enfermedad para poder prevenirla y/o tratarla. Las lipoproteínas juegan un papel protagónico central en esta enfermedad, ya que, entre otras cosas se ha demostrado que la concentración plasmática de colesterol-HDL tiene una correlación negativa con el riesgo de desarrollar enfermedad aterosclerosa coronaria ¹, lo que implica que su aumento en el plasma tiene un papel benéfico en la prevención de la enfermedad. Estudios epidemiológicos, han puesto de manifiesto que en México, la dislipidemia más frecuente es la hipoalfalipoproteinemia (niveles bajos de C-HDL) ⁵¹. Las causas primarias de esta dislipidemia aun no se conocen en su totalidad, por lo que se vuelve objetivo de estudio para desarrollar terapias preventivas para combatir este factor de riesgo. Se conocen varios factores metabólicos que pueden alterar los valores de colesterol HDL. Entre ellos se encuentran las enzimas y proteínas que se ven involucradas en el TRC.

Décadas de trabajo de investigación han demostrado que, indiscutiblemente la dieta ejerce una marcada influencia en los niveles séricos de lípidos y lipoproteínas. Por consiguiente, la dieta es importante tanto en la prevención como en el tratamiento de las dislipidemias y la cardiopatía coronaria.

Durante mucho tiempo, no se prestó suficiente atención a los ácidos grasos monoinsaturados. Sin embargo, recientemente se ha obtenido un gran acopio de indicios que demuestran que los ácidos grasos monoinsaturados podrían ofrecer ciertas ventajas con

respecto a los ácidos grasos poliinsaturados como reemplazo de los ácidos grasos saturados en las dietas.

El presente trabajo pone de manifiesto, por primera vez, que el aguacate dentro de la dieta provoca cambios en las HDL que probablemente favorecen su papel antiaterogénico. En nuestro estudio, comparamos los efectos de una dieta isocalórica en donde la fuente principal de lípidos o grasas fue el aguacate fresco (DCA), contra una dieta habitual (DH).

El estudio tuvo como base trabajos realizados previamente sobre el mismo problema ⁶⁹, en el cual los resultados fueron muy semejantes a los obtenidos en este estudio.

El diseño del estudio prevé que el suplemento de aguacate en la dieta no incremente la cantidad de calorías en comparación con la dieta habitual. Durante el tiempo que duró el tratamiento (5 semanas) pudo observarse que la curva de crecimiento de los animales en estudio es igual a la de los animales control, confirmando que ambos grupos recibieron la misma cantidad de calorías y que el aprovechamiento de los nutrientes fue comparable.

En lo que concierne al efecto del aguacate sobre el perfil de lípidos, el grupo DCA presentó niveles menores de TG y un aumento en la concentración de C-HDL en comparación con el grupo control. Los triglicéridos representan un factor de riesgo independiente para el desarrollo de aterosclerosis ⁶⁰. En este sentido, nuestros resultados sugieren que la inclusión de aguacate en la dieta puede contribuir a disminuir el riesgo de aterosclerosis a través de la reducción de los niveles de triglicéridos. La veracidad de esta propuesta debe ser analizada en estudios epidemiológicos prospectivos.

Por otra parte, la elevación del C-HDL plasmático sugiere otro efecto cardioprotector del aguacate. La relación inversa entre niveles de C-HDL y riesgo de enfermedad aterosclerosa

coronaria es bien conocida ¹, sin embargo, las HDL son una clase de lipoproteínas integrada por una amplia gama de partículas que difieren en estructura y composición ^{14,15}. La importancia de reconocer la heterogeneidad de las HDL radica en que no todas las subclases HDL tiene en el mismo efecto cardioprotector ¹⁵; por ejemplo, las HDL pequeñas son los mejores aceptores de colesterol excedente de las células periféricas ¹. Por esta razón, nos interesamos en caracterizar las HDL que se generan por la suplementación de aguacate en la dieta. Nuestros resultados demuestran que existe una reducción significativa del tamaño de las partículas HDL en grupo DCA, sugiriendo que la inclusión de aguacate en la dieta contribuye a incrementar el número de aceptores primarios de colesterol. Además, se ha demostrado que la capacidad de las HDL para captar colesterol depende directamente de su contenido de fosfolípidos ⁶³. En este sentido, la DCA induce un aumento muy importante en la proporción de fosfolípidos de las HDL a expensas de la proporción de proteínas, apoyando la idea de que el aguacate aumenta la capacidad de las HDL para promover el flujo de colesterol. Estudio de flujo de colesterol de células en cultivo contribuirán a confirmar el papel benéfico del aguacate en esta función de las HDL. Estudios *in vivo* indican que las HDL pueden inhibir muchos de los efectos de la oxidación de las LDL. Parthasarathy y Cols ⁵⁸ han sugerido que las HDL pueden jugar un papel protector en la aterogénesis al prevenir la generación de LDL modificadas por la oxidación. Además, estudios recientes han demostrado que las HDL pequeñas son las partículas con mayor potencial antioxidante ⁶⁸. Esta actividad antioxidante está determinada en gran parte por la paraoxonasa que se encuentra físicamente asociada a las HDL de una tensión de superficie específica ³⁵ y es capaz de reducir la generación de lípidos oxidados ⁵⁹.

Resultados de nuestro laboratorio demuestran que las HDL pequeñas son los primeros aceptores de la reserva hepática de paraoxonasa⁶⁴, confirmando el papel antioxidante de las HDL pequeñas. Por lo anterior, el decremento significativo del diámetro de las HDL inducido por el aguacate, sugiere una mejora en su capacidad antioxidante, directamente relacionada con el aumento observado en la cantidad de paraoxonasa transportada por estas lipoproteínas.

En resumen, el aguacate en la dieta induce un aumento de C-HDL y cambios estructurales de las partículas HDL que mejoran el potencial antiaterosclerótico del perfil hallado para estas lipoproteínas. La identificación de los factores metabólicos que sustentan tales modificaciones estructurales de las HDL, permite identificar blancos potenciales para una intervención farmacológica preventiva de la aterosclerosis. Por esta razón, determinamos dos de los factores principales que participan en la remodelación intravascular de las HDL, la LCAT y la PLTP. Al determinar dichas actividades observamos que la actividad de ambos factores de remodelación fue semejante entre los dos grupos. Estos resultados sugieren que la modificaciones estructurales de las HDL inducidas por el aguacate pueden tener su origen en aumentos de la expresión del receptor hepático SR-B1 y/o la proteína de membrana ABCA1, ambos involucrados en el metabolismo y remodelación de las HDL. En efecto, se ha demostrado que la interacción de las HDL con el receptor SR-B1, conduce a la formación de HDL pequeñas⁶¹. Además, decrementos de la expresión de el receptor hepático SR-B1 en rata inducidos por fibratos, se asocian con el aumento de tamaño de las partículas HDL⁶². Por lo anterior, el SR-B1 es una proteína candidato para explicar los cambios estructurales de las HDL inducidos por el aguacate. La cuantificación del RNAm

del SR-B1 bajo la influencia del aguacate o sus extractos, contribuirán a establecer la veracidad de esta hipótesis.

Por su parte, la proteína de membrana ABCA1 promueve el movimiento de fosfolípidos hacia las HDL, enriqueciéndolas en los mismos, como observamos en este trabajo. Las deficiencias de origen genético en heterocigotos de ABCA1 resultan en niveles de C-HDL disminuidos⁶⁵, debido a que el eflujo de colesterol desde las células hacia las HDL es defectuoso⁶⁶. Además, la sobreexpresión de ABCA1 en animales transgénicos, resulta en incrementos muy importantes del C-HDL plasmático⁶⁷. Por lo tanto, la cuantificación de la del ABCA1 suplementando la dieta con aguacate es uno de los candidatos casi obligados para ser incluidos en estudios posteriores.

IX. CONCLUSIÓN

El aguacate como fuente principal de grasas dietéticas induce modificaciones sobre el perfil lipídico; reduce los niveles de triglicéridos y de C-LDL. Estos cambios contribuyen sin duda a disminuir el riesgo de aterosclerosis. Por otro lado se eleva la concentración de C-HDL, dicho aumento modifica su metabolismo hacia una situación de mejor pronóstico.

Nuestros resultados también demuestran que la inclusión de aguacate en la dieta induce la generación de partículas HDL más pequeñas, lo que podría mejorar su actividad antiaterogénica y se asocia con un aumento de la actividad de la PON medida con fenilacetato como sustrato.

Las modificaciones en la concentración de C-HDL y estructura de las mismas inducidas por el aguacate dietario no están relacionadas con la LCAT ni la PLTP, factores de remodelación de HDL que son clave en su metabolismo.

X. PERSPECTIVAS

Por último, el presente trabajo de investigación nos permite sugerir aspectos de interés para estudios futuros:

- 1) El análisis del efecto de la dieta suplementada con aguacate sobre la síntesis y catabolismo de las HDL, con el objeto de generar más información acerca del efecto potencial antiaterogénico de este fruto.
- 2) Efecto del aguacate alimentario sobre las funciones de las HDL a nivel de eflujo de colesterol, capacidad antiinflamatoria y de eliminación de lipoperóxidos.
- 3) La cuantificación de la expresión del SR-BI y del ABCA1 en animales experimentales con dieta suplementada con aguacate permitirá obtener evidencias acerca de los mecanismos fisiológicos de la elevación del C-HDL.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Pérez-Méndez O. A., Luc G., Posadas C. Concentraciones bajas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. Arch. Inst. Cardiol. Méx. 2000 ; 70: 312-321.
2. Lehniger L. A., Nelson L. D., Cox M. M. Lípidos. Principios de Bioquímica. 2da. Edición. Editorial Ediciones Omega; Barcelona, 1993. pp. 240- 266.
3. Voet D., Voet J. G. Bioquímica; Ed. Omega. Barcelona España 1990. pp. 294-300.
4. Von Eckardstein A, Huang Y, Assman G: Physiological role and clinical relevance of high density lipoprotein subclasses. Curret Opinion in Lipidology. 1994; 5: 404-416.
5. Kane J. P: Estructura y funcion de las lipoproteinas plasmáticas y de sus receptores. En fuster V, Ross R., Topol E. J., Atherosclerosis y enfermedad arterial coronaria, Editorial Springer-Verlag Ibérica, Barcelona 1997. pp. 97-112.
6. Rader J. D., Maugeais C. Genes influencing HDL metabolism: new perspectives and implications for atherosclerosis prevention. Molecular Medicine Today. 2000;6:170-175.
7. Von Eckardstein A. Nofer JR, Assman G: High density lipoproteins and arteriosclerosis:Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21(1): 13-27.
8. Tall AR. Plasma High density lipoproteins. Metabolism and relationship to atherogenesis. J. Clin Invest 1990; 86: 379-384.
9. Gotto AM, Ponnall HJ, Havel RJ: Introduction to the plasma lipoproteins. Methods Enzymol 1986;128:341.
10. He X-M, Carter DC. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. Nature 1992;358: 209-215.
11. Janero DR, Siuta-Mangano P, Miller KW, Lane MD: Synthesis, processing and secretion of hepatic very low density lipoprotein. J Cell Biochem 1984; 24: 131-152.

12. Rudney H, Panini SR: Cholesterol biosynthesis. Curr Opin Lipidol 1993; 4: 230-237.
13. Slater EE, Alberts AW, Smith RL: HMG-CoA reductase inhibitors. In the role of cholesterol on atherosclerosis: new therapeutic oppostunities, edited by Grundy S. M and bearn A. G., Haley & Belfus, Inc. Philadelphia, pp. 35-50. 1987.
14. Phillips MC, Rothblat GH: HDL and cholesterol efflux. Atherosclerosis 1997; 134: 114.
15. Barrans A, Jaspard B, Barbaras R, Chap H, Perret B, Collet X: Pre-[beta] HDL: Structure and metabolism. Biochim Biophys Acta 1996; 1300: 73-85.
16. Skinner ER: High-density lipoprotein subclasses. Current Opinion in Lipidology 1994; 5: 241-247.
17. Parra HJ, Arveiler D, Evans AE Cambou JP, Amouye P, Bingham A, McMaster D, Schaffer P, Douste-Blazy P, Luc G, et al: A case-control study of lipoprotein particles in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. The ECTIM study. Atherosclerosis Thromb 1992; 12: 701-707.
18. Assman G, Schulte H, Von Eckardstein A, Huang Y: High density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. Atherosclerosis 1996; 124 (S): 11-20.
19. Sviridov D, Nestel P: Dynamics of reverse cholesterol transport; protection against atherosclerosis. Atherosclerosis 2002; 161: 245-254.
20. Fielding C, Fielding P: Molecular physiology of reverse cholesterol transport. J lipid Res 1995; 36: 211-228.
21. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du B, Faull KF, Fogelman AM et al: Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. J Clin Invest 1995; 96: 2882-2891.
22. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paro SL, La Du B: Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. J Clin Invest 1998; 101: 1581-1590.

23. Hayec T, Oiknine J, Danker G, Brook JG, Aviram M: HDL apolipoprotein A-I attenuates oxidative modification of low density lipoprotein; studies in transgenic mice. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33: 721-725.
24. Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ: High density lipoproteins inhibit citokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995; 15: 1987-1994.
25. Nofer JR, Walter M, Kehrel B, Wierwille S, Tepel M, Seedorf U, Assman G: HDL mediated inhibition of thrombin-induced platelet aggregation and fibrinogen binding occurs via decreased production of phosphoinositide derived second messengers 1-2 diacylglycerol and inositol 1,4,5-tris-phosphate. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998; 18: 861-869.
26. Uittenbogaard A, Shaul PW, Yuhanna IS, Blair A, Samrt EJ: High density lipoprotein prevents oxidized LDL-induced inhibition of endothelial nitric-oxide synthase localization and activation in caveolae. J Biol Chem 2000; 275: 11278-11283.
27. Tall AR: An overview of reverse cholesterol transport. Eur Heart J 1998; 19: A31-A35.
28. Kwiterovich PO: The antiatherogenic role of HDL cholesterol. Am J Cardiol 1998; 82: 13Q-21Q.
29. Hayden MR, Clee SM, Brooks-Wilson A, Genest J Jr, Attie A, Kastelein JJ: Cholesterol efflux regulatory protein, Tangier disease and familial high density lipoprotein deficiency. Curr Opin Lipidol 2000; 11: 117-122.
30. Gotto AM Jr: High density lipoproteins: Biochemical and metabolic factors. Am J Cardiol 1983; 52: 2B-4B.
31. Tall AR. Plasma high density lipoproteins. Metabolism and relationship to atherogenesis. J Clin Invest 1990; 86: 379-384.
32. Loy S, Simon R, Delgado R. Vimang, un potencial protector de la peroxidación lipídica en lipoproteínas de baja densidad. Rev Cubana Invest Biomed 2002; 21 (3): 167- 170.
33. Sánchez F. Patología molecular de las HDL. Ars Pharmaceutica 2000; 41; 1: 59- 65.

34. Fernandez-Brito JE, Castillo JA, Taquechel N, Barriuso A, Vilaú F. Atherosclerosis, colesterol y pared arterial: algunas reflexiones. Rev Cubana Invest Biomed 1999; 18(3): 169-175.
35. Perez-Mendez O, Huesca GC. El papel antiaterogénico de la paraoxonasa 1. Revista de educación Bioquímica 2002; 21: 245-251.
36. Aviram M, Roseblat M, Bisgaier LC, Newton SR, Primo-Parmo LS, La Du NB. Paraoxonase inhibits high density lipoproteins oxidation and preserve its function. A possible peroxidative role for paraoxonasa. J. Clin Invest 1998; 101: 1581-1590.
37. Furlong EG, Richter JR, Chapline C and Crabb WJ. Purification of rabbit and human serum paraoxonasa. Biochemistry 1991; 30: 10132-10140.
38. Deakin S, Leviev I, Gomaschi M, Calabresi L, Franceschini G and James RW. Enzymatically active paraoxonasa 1 is located of the external membrane of producing cell and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. J Biol Chem 2002; 277: 4301-4308.
39. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN . Human serum paraoxonase/arylesterases retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipid. Apolipoprotein A-I stabilizes activity. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19: 2214-2225.
40. Morel DW, DiCorleto PE, Chisolm GM: Endotelial and smooth muscle cells alter low-density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. Arteriosclerosis 1984; 4: 357-364.
41. Parthasarathy S, Printz DJ, Boyd D, Joy L, Steinberg D: Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a form recognized by the Scavenger receptor. Arteriosclerosis 1986; 6: 505-510.
42. Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D: Oxidatively modified low density lipoproteins; A potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 2995-2998.
43. Lusis AJ: Atherosclerosis. Nature 2000; 407: 233-241.

44. Rodríguez Suppo F. , El Aguacate, 1ª edición, AGT Editor S.A., México ,1982, pp. 9-13,
45. [http://: www.agronegocios.gob.sv](http://www.agronegocios.gob.sv)
46. Alvizouri Muñoz M., Corral Cossio A., Rodríguez Barrón A., Chávez Carvajal F. El aceite de aguacate en la prevención de aterosclerosis experimental inducida con colesterol. *Aterosc. Prev. Cardiov.* 2001; 4(4): 92-98.
47. Carranza Madrigal J., Alvizouri Muñoz M., Alvarado Jiménez M. R., Chávez Carvajal F., Gómez M., Herrera J.E. Effects of avocado on the level of blood lipids in patients with phenotype II and IV dyslipidemias. *Arch. Inst. Cardiol. Mex.* 1995; 65(4): 342-348.
48. Alvizouri Muñoz M., Carranza Madrigal J., Herrera Abarca J.E., Chavez Carvajal F., Amezcua Gastelum J.L. Effects of avocado as a source of monounsaturated fatty acids on plasma lipid levels. *Arch. Med. Res.* 1992; 23(4): 163-167.
49. Lopez Ledesma R., Munari A.C., Frati, Hernández Dominguez B. C., Cervantes Montalvo S., Luna Hernández MH, Juarez C., Moran lira S. Monounsaturated fatty acid (avocado) rich diet for mild hypercholesterolemia. *Arch. Med. Res.* 1996; 27(4): 519-523.
50. Carranza Madrigal J., Herrera Abarca J. E., Alvizouri Muñoz M., Alvarado Jiménez M., Chávez Carvajal F. Effects of a vegetarian diet vs. a vegetarian diet enriched with avocado in hypercholesterolemic patients. *Arch. Med. Res.* 1997; 28(4): 537-541.
51. Aguilar-Salinas CA., Olaiz G., Valles V., *et. al.* High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nationwide survey. *J Lipid Res.* 2001; 42: 1298-1307.
52. Aguilar-Salinas CA., Vázquez-Chávez C., Gamboa-Marrufo R., *et. al.* Obesity, Diabetes, Hypertension, and Tobacco Consumption in an Urban Adult Mexican Population. *Archives of Medical Research.* 2001; 32: 446-453.
53. Huesca Gómez C., Franco M., Luc G., Montañó L. F., Posadas Romero C., Pérez Méndez O: Chronic Hypothyroidism Induces Abnormal Structure of High-density

- Lipoproteins and Impaired Kinetics of apolipoproteínas A-I in the rat. *Metabolism* 2002, 4: 443-450.
54. Chen C., Albers J. J: Characterization of proteoliposome containing apolipoprotein A-I: a new substrate for the measurement lecithin cholesterol acyltransferase activity. *J Lipid Res* 1982; 23: 680-691.
55. Tollefson J. H., Albers J. J: Isolation, characterization. And assay of plasma lipid transfer proteins. In: Albers J. J., Segrest J. P., eds. *Methods of Enzymology.* New York, NY: Academic Press Inc; 1994: 797-812.
56. Gan K. N., Smolen A. Eckerson H. W., Ladu B. N: Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 100-106.
57. Blanche P. J., Gong E. L., Forte T. M., Nichols A.V: Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 1981; 665: 408-419.
58. Parthasaraty S, Barnett J, Fong LG. High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1044: 275.
59. Mackness MI, Durrington PN. Lipoprotein sepatation and analysis for Clinical Studies. En: Lipoprotein analysis a practical approach. Converse CA, Skinner ER. Oxford University Press. Inglaterra 1992. Pp 1.
60. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106: 3143-3421
61. Webb NR, Cai L, Ziemba KS, Yu J, Kindy MS, van der Westhuyzen DR, de Beer FC. The fate of HDL particles in vivo after SR-BI-mediated selective lipid uptake. *J Lipid Res.* 2002; 43:1890-1898.
62. Mardones P, Pilon A, Bouly M, Duran D, Nishimoto T, Arai H, Kozarsky KF, Altayo M, Miquel JF, Luc G, Clavey V, Staels B, Rigotti A. Fibrates down-regulate hepatic scavenger receptor class B type I protein expression in mice. *J Biol Chem.* 2003; 278:7884-7890.
63. Doviasova M. Regulation of endogenous transport of cholesterol. En: Advances in lipid research. Kritchevsky RD. Ed academic Press, New York 1983 P.p 109.

64. Ramírez-Salazar E. G, Pérez-Méndez O. A. Trabajo de Tesis Estudio de la captación de paraoxonasa en vivo por las lipoproteínas de alta densidad. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". Dep Fisiología. 2003
65. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, Yu L, Brewer C, Collins JA, Molhuizen HO, Loubser O, Ouelette BF, Fichter K, Ashbourne-Excoffon KJ, Sensen CW, Scherer S, Mott S, Denis M, Martindale D, Frohlich J, Morgan K, Koop B, Pimstone S, Kastelein JJ, Hayden MR: Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. Nat Genet 1999; 22: 336-345.
66. Clee SM, Kastelein JJ, van Dam M, Marcil M, Roomp K, Zwarts KY, Collins JA, Roelants R, Tamasawa Stulc NT, Suda T, Ceska R, Boucher B, Rondeau C, DeSouich C, Brooks-Wilson A, Molhuizen HO, Frohlich J, Genest J, Hayden MR: Age and residual cholesterol efflux affect HDL cholesterol levels and coronary artery disease in ABCA1 heterozygotes. J Clin Invest 2000; 106: 1263-1270.
67. Singaraja RR, Bocher V, James ER, Clee SM, Zhang LH, Leavitt BR, Tan B, Brooks-Wilson A, Kwok A, Bissada N, Yang YY, Liu G, Tafuri SR, Fievet C, Wellington CL, Staels B, Hayden MR: Human ABCA1 BAC transgenic mice show increased HDL-C and ApoA1 dependent efflux stimulated by an internal promoter containing LXREs in intron 1. J Biol Chem. 2001; 276: 33969-33979.
68. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ: Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL Against Oxidative Stress. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 1881-1888.
69. García-Hernández L, Pérez-Méndez O A. Reporte de LABDEA. Efecto del aguacate sobre el perfil lipídico y el metabolismo de las HDL en ratas. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". Dep Fisiología. 2002.

ANEXOS

ANEXO 1 A. Gel de poliacrilamida en condiciones nativas.

Tamaños de HDL, para un gel con gradiente 4%-30%.

		4% (5 ml)	30% (5ml)
TBE	(ml)	0.5	0.5
Bis-acrilamida	(ml)	0.4	3.0
Agua	(ml)	4.1	0.75
Glicerol	(ml)	-----	0.75

Una vez que ya se tiene esto, adicionar al momento de hacer el gel lo siguiente:

Persulfato de amonio 10 mg/100 μ l	20 μ l	20 μ l
TEMED	4 μ l	4 μ l

El buffer de corrida es TBE

Migrar a 20V por 15 minutos , sin muestra

Depositar 20 μ g de proteina al gel con 5 μ l de buffer de muestra

Migrar a 70 V por 15 minutos

Migrar a 165 V por 20 horas

Tefir el gel con azul de Coomasie

Usar los marcadores de radio de Stokes

Marcadores de radio de Stokes

Tiroglobulina	17.0 nm
Ferritina	12.2 nm
Catalasa	10.4 nm
Lactato deshidrogenasa	8.1 nm
Albúmina	7.1 nm

ANEXO 1 B. Gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS).

Separación de apolipoproteínas.

Solución A; 36.3g Tris-HCl c.b.p. 100 ml, pH = 8.9

Solución B; 48.0 g acrilamida + 1.28 g bis-acrilamida c.b.p. 100 ml

Solución C; 10 g SDS c.b.p. 100 ml

Solución E; 39.4 g Tris + 2.0 g SDS c.b.p. 1 000 ml, pH = 6.8

		4%	21%	St
Solucion A	(ml)	1.0	1.0	-----
Solucion B	(μ l)	320	1 770	300
Agua	(ml)	2.68	0.23	1.5
Glicerol	(ml)	-----	1.0	-----
SDS	(μ l)	40	40	-----
Solucion E	(ml)	-----	-----	2.0

Una vez que ya se tiene esto, adicionar al momento de hacer el gel lo siguiente:

Persulfato de amonio 10 mg/100 μ l	25 μ l	25 μ l	40 μ l
TEMED	5 μ l	5 μ l	6 μ l

- El buffer de corrida es
- Depositar 30 μ g de proteina al gel con 10 μ l de buffer de muestra
- Migrar a 60 mA hasta que entren las muestras en el gel concentrador
- Migrar a 90 V durante 2.5 horas (hasta que salga el frente de migración del gel)
- Tefñir el gel con azul de Coomasie
- Usar los marcadores de bajo peso molecular

Marcadores de bajo peso molecular

α - Lactoalbúmina	14, 400
Inhib. Tripsina	20, 100
Anhidrasa carbónica	30, 000
Ovoalbúmina	45, 000
Albúmina	66, 000
Fosfolirilasa	97, 000

ANEXO 2. Aislamiento de Apo AI

Se obtuvieron HDL por ultracentrifugación secuencial diferencial, posteriormente se liofilizaron y se deslipidaron con una mezcla de solventes orgánicos (etanol: éter; 2:1). La parte proteica se disolvió en solución Tris-HCl 30 mM (Boehringer-Mannheim) y solución amortiguadora de Urea 6 M a pH = 8.0, esta mezcla se sometió a cromatografía de intercambio iónico, para separar Apo AI usando una columna UnoTM-Q1 (Bio Rad[®] Serie Q1-2291) acoplada a un sistema de cromatografía Bio Rad[®] Dou Flow. La elusión de proteínas se realizó con un gradiente lineal en la misma solución amortiguadora de NaCl 0.1 M. Se colectaron fracciones de 250 μ l y se seleccionaron solo las fracciones que contenían apo AI, esto se verificó con una electroforesis PAGGE-SDS con un gradiente de 4% a 21%, haciendo visibles las bandas con una tinción de azul de Coomassie, obteniéndose una pureza del 98%. La concentración de Apo AI fue estimada por el método de Lowry. Las fracciones que contenían apo AI se dializaron con bicarbonato de amonio 5 mM, posteriormente se liofilizaron y se almacenaron a -20° C.

**ANEXO 3. Preparación del sustrato: proteoliposoma con colesterol-[³H];
procedimiento de diálisis de colato.**

Los proteoliposomas son partículas discoidales que simulan HDL nacientes y de esta manera se determinó *in vitro* el metabolismo de las HDL. En un tubo de ensaye se agregó 870 µl de lecitina 10 mg/ml (Sigma, St Louis MO), 205 µl de colesterol libre 1 mg/ml (Colesterol Sigma, St Louis) y 20 µl de ³H-Colesterol no esterificado 48 Ci/mmol en tolueno (Amersham Pharmacia Biotech). Se evaporó el disolvente orgánico con N₂.

En otro tubo se adicionó 1.7 ml de buffer Tris-HCl 10 mM pH 7.4, se adicionó 1 ml de apo AI (1 mg/ml) y 340 µl de solución de colato 0.725 M disuelto en el mismo buffer Tris HCl. El contenido de ambos tubos se mezcló y se agitó vigorosamente en uno solo y se llevó a cabo una diálisis por tres días con buffer Tris con el fin de eliminar el colato excedente. Se llevo así a una proporción molar final de 0.8:250:12.5 de apo AI:

lecitina: ³H-colesterol libre en los proteoliposomas. Se ajustó al volumen de 4.5 ml y se realizaron alícuotas de 100 µl de la solución de proteoliposomas y se congelaron a -20 °C.

ANEXO 4. Solución de TBS. (buffer Tris, NaCl, EDTA)

Tris 10mM, NaCl 150 mM, 1 mM EDTA y NaN₃ 0.200 g/L.

Pesar 1.221g de Tris, 8.700 g de NaCl, 0.372 g de EDTA y 0.200 g de NaN₃, disolver con agua deionizada, ajustar el pH a 7.4 y aforar a 1 L con agua deionizada.

ANEXO 5. Preparación de liposomas.

Mezclar 73.5 µl de fosfatidilcolina (10 µmol), 20 µl de fosfatidilcolina marcada (10 nmol-100 mCi/mmol) y 100 µl de butil hidroxitolueno (1 nmol/µl), poner los tubos en hielo.

Evaporar la mezcla con N₂ durante 10 minutos.

Agregar 0.5 ml de TBS (ver anexo 4) y mezclar en vortex.

Agregar 0.5 ml de TBS y mezclar en vortex, trasvasar el contenido a un tubo cónico.

Sonicar la mezcla (35 pulsos, 5 minutos) y esperar 1 minuto, repetir el procedimiento anterior.

Sonicar la mezcla (35 pulsos, 5 minutos) y trasvasar el contenido a un tubo eppendorff de 1.5 ml.

Centrifugar 10 minutos a 15 000 rpm.

Separar el sobrenadante (~ 1ml) conteniendo los liposomas marcados.

Se hacen alícuotas de 100 μ l y se congelan a -20°C .

ANEXO 6.

El plasma tiene una densidad de 1.006 g/ml. Para separar las HDL por ultracentrifugación secuencial se necesita un aumento de la densidad del plasma, este aumento se logra gracias a la siguiente formula.

Para pasar un plasma de una densidad d_1 a una d_2 .

$$\text{Vol. Solución diluyente} = \frac{\text{Vol. Solución } (d_2-d_1)}{d \text{ sol. diluyente}-d_2}$$

Para preparar la solución de KBr densidad de 1.063 g/ml, se pesan 94.26 g de KBr + 0.1 g de EDTA y se afora a 1 L con agua destilada.

Para preparar la solución de KBr densidad de 1.21 g/mL, se pesan 337.36 g de KBr + 0.1 g de EDTA y se afora a 1 L con agua destilada.

ANEXO 7. Preparación de buffer TBE (Tris 0.09 M, ácido bórico 0.08 M, EDTA 3mM).

Se pesan 4.89 g de ácido bórico, 10.9026 g de Tris-HCl, 1.12 g de EDTA, disolver con agua destilada ajustando a un pH = 8 y se afora a 1 L.

ANEXO 8. Técnica de Lowry para la cuantificación de proteínas.

Solución A:	NaCO ₃ 10 H ₂ O	2.39 g
	Tartrato de Na y K	0.02 g
	NaOH 0.1 M	cbp 100 ml
Solución B:	CuSO ₄	0.5 g
	Agua destilada	cbp 100 ml

Solución C: Preparar en el momento de usarse. 50 ml A + 1 ml B.

Reactivo de Folin 1:4 H₂O destilada.

Estándar 1 µg de ASB/µl.

Curva patrón.

Tubo	1	2	3	4	5	6
Estándar	0 µl	10 µl	20 µl	40 µl	80 µl	100 µl
H ₂ O	100 µl	90 µl	80 µl	60 µl	20 µL	0 µl
M	E	Z	C	L	A	R
SDS	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Sol.C	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad						
Folin	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad						

Leer a 750 nm.

ANEXO 9. Preparación de azul de Coomasie y el decolorante de tinción.

Azul de Coomasie. (250mL)

Azul brillante de Coomasie	0.25 g
Metanol 25%	62.5 ml
Ácido acético 10%	25.0 ml
Agua destilada 65%	162.5 ml

Decolorante de tinción (1 500 ml)

Metanol 25%	375.0 ml
Ácido acético 10%	150.0 ml
Agua destilada 65%	975.0 ml

ANEXO 10. Determinación de la actividad de la paraoxonasa

Se necesita muestra de suero para poder llevar a acabo la determinación

Buffer ARE

Buffer	Tris-HCl	20 mM	0.31512 g	
	CaCl ₂	0.9 mM	0.010 g	c.b.p 100 ml
		pH = 8		

Al momento de realizar la determinación agregar 1.27µl de fenilacetato / 10 ml de buffer

PREPARACION DEL SUSTRATO (Prepararse al momento de realizar la determinación)

Sustrato de arilesterara

Agregar 1.27 µl de fenilacetato en 10 ml de buffer ARE

DETERMINACION DE ACTIVIDAD

Actividad arilesterasa

Diluir a la ½ la muestras en buffer ARE.

Diluir 10µl de la muestra en 1 ml de sustrato ARE

Mezclar y esperar 1 minuto

Seguir la cinética c/30 seg. por 3 minutos a 270 nM

CALCULOS DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA

Actividad arilesterasa ($\mu\text{mol fenilacetato hidrolasa /min /ml suero}$)

$$\epsilon \text{ fenilacetato} = 1310 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$\text{Actividad} = (\Delta \text{DO} / \epsilon) \times 10^3 \times 100 \times \text{dilución}$$