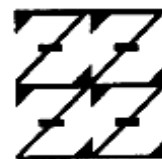




**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

U N A M  
F E B  
Z A R A G O Z A



LO HUMANO ES  
DE MAYOR REFINACIÓN

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**“DETERMINACIÓN DE LAS ALTERACIONES EN  
LA VASCULATURA DE RATAS HEMBRA  
WISTAR, OCASIONADAS POR UNA INGESTA  
ALTA EN CARBOHIDRATOS”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**LIMA MENDOZA LUIS ANGEL**

**Director:  
Dra. Guadalupe Bravo.**

**Asesor:  
M. en C. María Teresa Griselda Fuentes Lara**

**JUNIO, 2008**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



**ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO 3  
DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOBIOLOGÍA DEL  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL IPN. (CINVESTAV) SEDE SUR, BAJO  
LA DIRECCIÓN DE LA DRA. GUADALUPE BRAVO Y  
LA ASESORÍA DE LA M. EN C. MARÍA TERESA  
GRISELDA FUENTES LARA.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Si tratara de agradecer a todas aquellas personas que de una u otra manera han participado en la formación de éste trabajo, tal vez sería tan extenso como el propio libro; un reconocimiento, entonces, a todas aquellas personas que por su trabajo, confianza, apoyo, paciencia, conocimiento y adecuada instrucción han permitido la realización de este proyecto. En especial a través de estas líneas se extiende una gratitud y reconocimiento por el apoyo moral y material recibido de las siguientes instituciones y personas, quienes comprometidas con la investigación y la sociedad, forman profesionistas éticos y de calidad.

**Dra. Guadalupe Bravo**, laboratorio # 3, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, unidad Sur, departamento de Farmacobiología.

**Biólogo Guillermo Rojas**, laboratorio # 3, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, unidad Sur, departamento de Farmacobiología.

**M. en C. María Teresa Griselda Fuentes Lara**, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

**Q.F.B. Patricia Vidal Millan**, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

**TH. Angel Tovar Luna**, laboratorio de histología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

**PhD. Laura P. Romero Romero, M. en C. Gerardo Salas Garrido y M.V.Z. Oralia Medina Rodríguez**, departamento de patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Y, finalmente a las personas que colaboraron u apoyaron para la realización de este proyecto, en especial al Dr. Enrique Hong Chong, M. en C. Samanta Esther Romero Silva, Mtra. Leonor Aguilar Santelises, M. en C. Arturo Valle Mendiola.

## DEDICATORIA

Gran parte de éste trabajo ha sido inspirado por diversas personalidades, en su tiempo han sido decididos luchadores y otros no tanto; unos por su trabajo y otros por sus acciones, poniendo en tela de juicio sus argumentos y haciendo visible sus verdaderos sentimientos. Sin menoscabos de las personas que han sido y seguirán siendo pilares de mi formación como humano y como profesionista, es mi propósito dedicar este trabajo a cinco personajes sobresalientes por sus obras y por sus actos y, a través de este medio, establecer un lazo inexorable a lo largo del tiempo. Con mi más sentido y agradecido reconocimiento a:

### *A Dios*

Por darme la oportunidad de vivir, estar siempre conmigo y por permitirme alcanzar esta meta.

### *A mi madre*

Alejandrina Mendoza Gallardo por su apoyo y cariño incondicional, las enseñanzas y las noches de desvelo que me dedicó para poder ser un buen hijo, un buen hermano, pero sobre todo un buen hombre.

### *A mis hermanos*

Alberto Jorge y Evelia Lima Mendoza por ser los mejores hermanos del mundo que podría tener.

### *A mis sobrinas*

Lidia Córdova Lima y Fernanda Yoselin Lima por su cariño y sobretodo por recordarme que uno nunca deja de ser niño.

### *A mis familiares y amigos*

A mis tíos y primos; a mis compañeros de generación; a mis amigos del CCH, a los amigos del fútbol, a los que se me olvidó mencionar, a los que ya no está aquí, a todas aquellas personas que estuvieron, están y estarán formar parte de mi vida.

# ÍNDICE

## RESUMEN

<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>1</b>
<b>I. FUNDAMENTO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
A. <i>Tejido adiposo.....</i>	3
D.1. Histogénesis e histofisiología del tejido adiposo unilocular.....	7
D.2. El adiposito como órgano endocrino.....	10
B. <i>Los carbohidratos como fuente de energía en la dieta diaria.....</i>	13
B.1. Digestión y absorción de los carbohidratos.....	15
B.2. La	17
sacarosa.....	17
B.2.a. Propiedades fisicoquímicas.....	17
B.2.b. Metabolismo.....	20
B.3. La fructosa.....	20
B.3.a. Propiedades fisicoquímicas.....	20
B.3.b. Metabolismo.....	
B.4. Implicaciones fisiopatológicas del adipocito sobre la	24
homeostasis de la glucosa.....	26
C. <i>Generalidades del aparato circulatorio .....</i>	27
C.1. Anatomía e histofisiología del corazón.....	29
C.2. Anatomía e histofisiología de la aorta.....	31
C.3. Flujo sanguíneo.....	32
C.4. Presión arterial y frecuencia cardiaca.....	33
C.5. Histofisiología del endotelio.....	36
C.5.a. Papel en algunas funciones cardiovasculares.....	39
D. <i>Técnicas empleadas para el análisis de parámetros bioquímicos.....</i>	39
D.1. Determinación cuantitativa, <i>in vitro</i> de: de glucosa.....	40

D.2. Colesterol.....	
D.3. Triglicéridos.....	41
D.4. Urea.....	42
D.5. Colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDLc).....	44
<b>II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>45</b>
<b>III. HIPÓTESIS.....</b>	<b>46</b>
<b>IV. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>47</b>
<b>V. OBJETIVOS PARTICULARES.....</b>	<b>47</b>
<b>VI. Material, reactivos y equipos.....</b>	<b>48</b>
A. Fármacos y reactivos.....	48
B. Equipo.....	49
C. Material.....	49
<b>VII. METODOLOGÍA.....</b>	<b>50</b>
A. Población.....	50
B. Alimento estándar <i>LabDiet</i> ® 5008.....	50
C. Anestesia.....	51
D. Método general de colección y almacenaje de la muestra.....	51
E. Determinación cuantitativa de parámetros bioquímicos <i>in vitro</i> .....	51
E.1. Glucosa.....	51
E.2. Colesterol.....	53
E.3. Triglicéridos.....	54
E.4. Urea.....	55
E.5. LDLc.....	56
F. Registro de la PAM y la FC en ratas anestesiadas.....	57
G. Preparaciones <i>in vitro</i> de órgano aislado de anillos aórticos.....	57
H. Técnicas histopatológicas.....	58
H.1. Aortas y corazones.....	58
H.2. Grasa (adipocitos).....	60
	61

I.	Análisis estadístico de los datos.....	
<b>VIII.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>62</b>
A.	Análisis del efecto producido en parámetros bioquímicos por una ingesta alta en carbohidratos.....	62
B.	Efecto del tratamiento alto en carbohidratos sobre la FC y la PAM en ratas anestesiadas.....	66
C.	Reactividad vascular en anillos aorticos con y sin tejido adiposo perivascular de ratas control, fructosa al 30% y sacarosa al 30%.....	67
D.	Efecto del tratamiento alto en carbohidratos sobre la microarquitectura de aortas y corazones de ratas hembra, Wistar.....	70
E.	Efecto del tratamiento alto en carbohidratos sobre, el incremento y las diferencias morfológicas de los adipocitos de grasa perivascular, de ratas hembra, Wistar.....	72
<b>IX.</b>	<b>DISCUSION.....</b>	<b>75</b>
<b>X.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>83</b>
<b>XI.</b>	<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>84</b>
<b>XII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>85</b>



## RESUMEN.

La ingesta excesiva de azúcar comercial, sacarosa y fructosa provoca consecuencias que repercuten en la salud de los individuos. Está relacionada con enfermedades crónicas degenerativas como respuesta a concentraciones altas de lípidos y glucosa en sangre, originando, alteraciones estructurales y funcionales en los vasos sanguíneos; éste exceso produce acumulación de ácidos grasos en los adipocitos.

En ratas hembras, Wistar de 250g, se administró sacarosa o fructosa al 30% P/v en el agua de beber. A las diez semanas se valoró: a) reactividad de aortas con y sin tejido adiposo; b) glucosa, colesterol, triglicéridos, LDLc y urea, c) presión arterial media (PAM) y frecuencia cardíaca (FC) y d) histología del adipocito. Los resultados muestran que existe una participación activa de la grasa perivascular en la contracción y en la relajación de anillos aórticos. Se observó diferencias significativas en los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol y LDLc entre los grupos sacarosa y fructosa con respecto al grupo control y no así en urea. No se observaron diferencias significativas en PAM; la FC aumentó considerablemente en sacarosa y fructosa. El tamaño de los adipositos de sacarosa y fructosa fue significativamente diferente, más no así en el deterioro de la microarquitectura vascular y de músculo cardíaco.

Estos resultados sugieren que la grasa perivascular, no solo tiene un papel como reservorio de energía, si no más bien, como un órgano endocrino capaz de liberar sustancias bioactivas, propiciando así, que resultaría de suma relevancia su evaluación en tratamientos agudos como crónicos, más allá de un período de 10 semanas que comprendió este estudio, y de las alteraciones hemodinámicas que se presentan por una ingesta alta en carbohidratos.

## ABREVIATURAS.

AC	Azúcar comercial, también Sacarosa
ATP	Adenosin trifosfato
4-AF	4-aminofenazona
ADP	Adenosina-5-difosfato
AMPK	Adenosin Monofosfato Protein Quinasa
BUN	Nitrógeno de urea sanguínea
C	Control
CE	Células endoteliales
CHE	Colesterol esterasa
CHOD	Colesterol oxidasa
CMLV	Células del Músculo Liso Vascular
DAP	Dihidroxiacetona fosfato
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
ET-1	Endotelina-1
FC	Frecuencia cardiaca
FHDE	Factor hiperpolarizante derivado del endotelio
FT	Factor tisular
Fr	Fructosa
FvW	Factor Von Willebrand
GC	Gasto cardiaco
GLUT	Glucose transporters
GPO	Glicerolfosfato deshidrogenado
GK	Glicerol quinasa
G3P	Glicerol-3-fosfato
H-E	Hematoxilina-Eosina
HSL	Lipasa sensible a hormona
IL-6	Interleucina-6
$K_m$	Constante de Michaelis
LPL	Lipoprotein lipasa
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LDLc	Colesterol de lipoproteínas de baja densidad

mmHg	Milímetros de mercurio
mN	Mili Newton
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido
NO	Óxido Nítrico
PA	Presión arterial.
PAM	Presión arterial media
PAI	Inhibidor del activador de plasminógeno
PGI <sub>2</sub> ,	Prostaciclina I <sub>2</sub>
POD	Peroxidasa
RBP-4	Pproteína que se une a retinol-4
ROS	Radicales libres de oxígeno
RVP	Resistencias vasculares periféricas
SGLT	Sodium-glucose transporters
TAU	Tejido Adiposo Unilocular
TAP	Tejido Adiposo Plurilocular
t-PA	Factor activador del plasminógeno
TNF- $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral alfa
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>2</sub>
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

## I. FUNDAMENTO TEÓRICO.

### A. TEJIDO ADIPOSO.

La grasa ó tejido adiposo es un tipo especializado de tejido conjuntivo, en el que se observa gran predominio de células adiposas, que se caracterizan por el metabolismo y acúmulo de sustancias grasas neutras (mezcla de ésteres de glicerina con los ácidos oléico, palmítico y esteárico). Estas células pueden hallarse aisladas o en pequeños grupos en el tejido conjuntivo común, pero la mayoría de ellas se agrupa en el tejido adiposo distribuido por el cuerpo.<sup>1</sup>

Los adipocitos son las células en donde se acumulan las grasas (triglicéridos, fosfolípidos y colesterol principalmente) en su citoplasma, en forma de gotas más o menos grandes, que se consideran inclusiones, es decir, no están rodeadas por una membrana con estructura equivalente a la membrana celular.

Además de ésta función, el tejido adiposo, por localizarse debajo de la piel, moldea la superficie corporal, siendo en parte responsable de las diferencias de contorno entre el cuerpo de la mujer y el hombre. Forma también almohadillas amortiguadoras, principalmente en las plantas de los pies y la palma de las manos. Como las grasas son malos conductores de calor, el tejido adiposo contribuye al aislamiento térmico del individuo. Además, llena los espacios entre otros tejidos y ayuda a mantener ciertos órganos en su posición normal.

Atendiendo a la distribución anatómica y fisiología del tejido adiposo, así como a la morfología y metabolismo de los adipocitos, en los vertebrados se distinguen dos variedades de tejido adiposo, identificables por la estructura de sus células y por su localización, color, inervación, vascularización y funciones: el tejido adiposo blanco o unilocular y tejido adiposo pardo o plurilocular, que

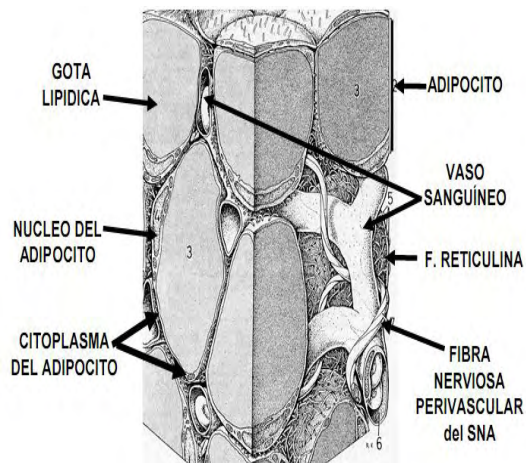
hacen referencia a la presencia de un solo (uni) sitio (locus) principal o de varios (pluri) sitios de acúmulo (gotas) de grasa en cada adipocito.

El **tejido adiposo unilocular** (TAU) varía entre el blanco y el amarillo oscuro, ésta coloración se debe principalmente al acúmulo de carotenoides disueltos en la grasa; está constituido por adipocitos uniloculares, los cuales pueden aparecer dispersos en cualquier parte del cuerpo que contenga tejido conjuntivo laxo o reticular, pero en el TAU forman el parénquima, disponiéndose apretados unos contra otros, mientras que el estroma, formado por tejido conjuntivo reticular y abundantes capilares sanguíneos, es más escaso.<sup>2</sup>

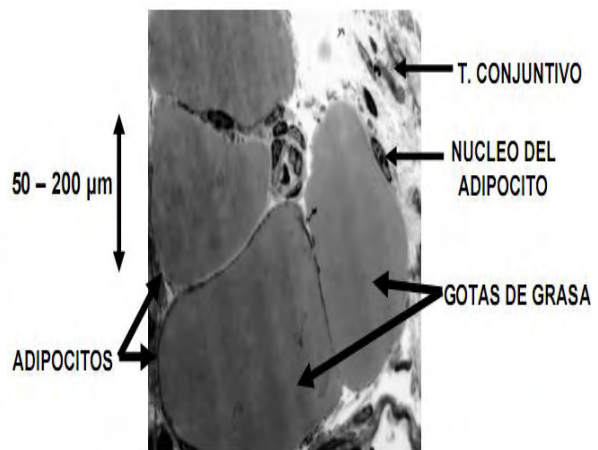
Las células adiposas uniloculares maduras son células esféricas y grandes, midiendo en general más de 100 micrómetros de diámetro, cuyo citoplasma está ocupado en su mayor parte por una única gota de grasa, a veces acompañada de otras de menor tamaño. Cada célula adiposa está envuelta por una capa de glucoproteínas (glucocálix) y su membrana plasmática muestra numerosas vesículas de pinocitosis. El citoplasma localizado en torno del núcleo de las células adiposas contiene el complejo de Golgi, algunas mitocondrias, vesículas de retículo endoplásmico rugoso y ribosomas libres. El citoplasma que rodea la gota lipídica presenta vesículas de retículo endoplásmico liso, mitocondrias y escasas vesículas del retículo endoplásmico rugoso; cuando están aisladas estas células son esféricas y adoptan una forma poliédrica en el tejido adiposo a causa de la compresión recíproca.<sup>1</sup>

El TAU está dividido por septos de tejido conjuntivo que contiene vasos y nervios (Figura 1-1.) De estos septos parten finas fibras reticulares que envuelven las células adiposas. El tejido adiposo no parece estar muy vascularizado, pero en realidad lo está si se considera la pequeña cantidad de citoplasma funcionante. De esta manera, la relación de volumen de capilar sanguíneo/volumen de citoplasma es más elevada en el tejido adiposo que en el músculo estriado.

En los cortes histológicos con técnicas de fijación e inclusión de rutina cada célula sólo muestra una capa delgada de citoplasma, los adipocitos aparecen deformados y forman mallas hexagonales con los núcleos situados en los nudos de la red, debido a la extracción de la grasa. Cuando se utilizan fijadores con osmio (Figura 1-2), podemos ver que los adipocitos mantienen su forma esférica y puede observarse con claridad el aspecto de las gotas de grasa, que aparecen homogéneas y oscuras debido a la presencia del osmio complejo a los lípidos. La tinción de los lípidos para microscopía óptica requiere del uso de colorantes liposolubles, como los Sudanés.<sup>3</sup>



**Figura 1-1.** Representación esquemática de la organización histológica del tejido adiposo unilocular. Modificados de Junquiera y Carneiro. 2005.

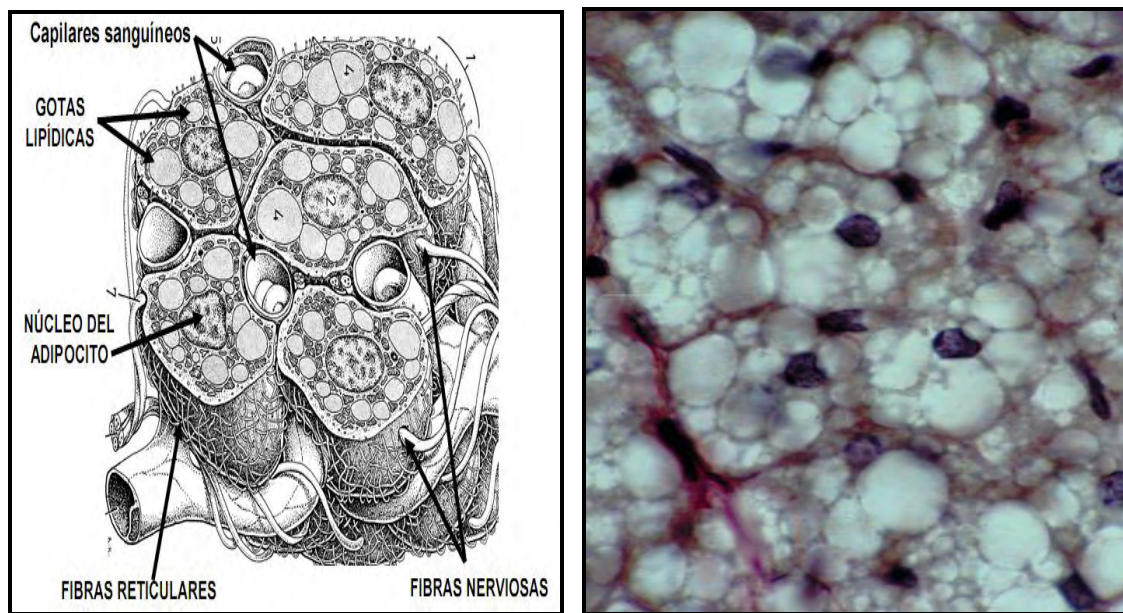


**Figura 1-2.** Tejido adiposo común, unilocular, preparado por métodos de fijación con osmio, técnica para fijar lípidos. Estructura a microscopía óptica.

Esta variedad de tejido adiposo está especializada en acumular grandes cantidades de grasas que actúan como sustancias de reserva, de forma que, en las fases de ingesta, los lípidos que pasan a la sangre son transportados a los adipocitos como quilomicrones y la glucosa es utilizada para sintetizar ácidos grasos por las células adiposas.<sup>4</sup>

El **tejido adiposo plurilocular** (TAP) llamado también tejido adiposo pardo, debido a su color característico. Este color se debe a la elevada cantidad de citocromos de las mitocondrias de las células; está formado por

los adipocitos pluriloculares, tienen forma poligonal, son de menor tamaño que los uniloculares (hasta 50 micrómetros en humanos), y se caracterizan por contener en su citoplasma una multitud de pequeñas gotas de grasa; contienen numerosas mitocondrias esféricas cuyas crestas son particularmente largas, pudiendo ocupar todo el espesor de la mitocondria, mientras que el núcleo ocupa una posición central en la célula (Figura 1-3.). El retículo endoplasmático en las formas lisa y rugosa está poco desarrollado.<sup>1</sup>



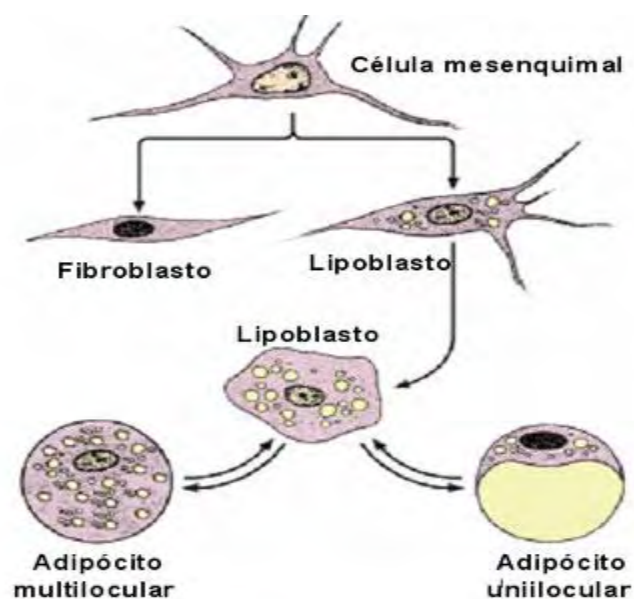
**Figura 1-3.** Tejido adiposo plurilocular, con numerosas inclusiones lipídicas pequeñas. Izquierda: (ultra estructura) muestra una abundante vascularización e inervación de fibras nerviosas a cada adipocito. Derecha: organización histológica, tinción H-E, aumento mediano. Izquierda Cortesía de Villena AJ. Curso de docencia de citología e histología 2005-2006. Derecha tomado de Leeson T y Leeson R. 1990.

En el tejido adiposo pardo las células adoptan un aspecto epiteloide, formando masas compactas en asociaciones con capilares sanguíneos, recordando las glándulas endocrinas. Septos de tejido conjuntivo dividen el TAP en lóbulos mejor definidos que en el TAU. El TAP está especializado en la producción de calor y muestran una localización anatómica delimitada y característica para cada especie al ser estimulado por la liberación de noradrenalina en las terminaciones nerviosas abundantes en torno a sus células, el TAP acelera su lipólisis y oxidación de ácidos grasos. Las mitocondrias de éste tejido son poco activas en el proceso de la fosforilación

oxidativa, de modo que la energía producida por los ácidos grasos oxidados se libera en forma de calor, con formación de una cantidad de ATP pequeña. El calor calienta la sangre contenida en la extensa red capilar existente y la distribuye a todo el cuerpo. En el hombre, la función de éste tejido parece que está restringida a los primeros meses de la vida postnatal; periodo, en donde el TAP produce calor, protegiendo de hipotermia a los neonatos. <sup>1,2</sup>

### A. 1. HISTOGÉNESIS E HISTOFISIOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO UNILOCULAR.

Los histólogos del siglo pasado consideraban que el tejido adiposo era simplemente una forma de tejido laxa en el que muchos de los fibroblastos habían acumulado cantidades excesivas de lípidos. Según esta interpretación, cualquier tejido conjuntivo podría convertirse en tejido adiposo siempre y cuando la ingesta alimentaria superara al gasto de energía. Posteriormente, se demostró que los adipocitos se diferencian a partir de las células precursoras especiales de origen mesenquimal llamadas *lipoblastos* o *preadipocitos*, <sup>1</sup> células parecidas a los fibroblastos, pero diferenciadas por acumular grasa en su citoplasma y que son las precursoras inmediatas de las células adiposas (Figura 1-5.)



**Figura 1-5.** Origen de las células adiposas. La célula superior es una mesenquimatosa indiferenciada, que, además de formar otros tipos celulares, da origen a los fibroblastos (izquierda) y los lipoblastos (derecha). Los lipoblastos se diferencian en células adiposas. Modificado de Junqueira y Carneiro, 2005.



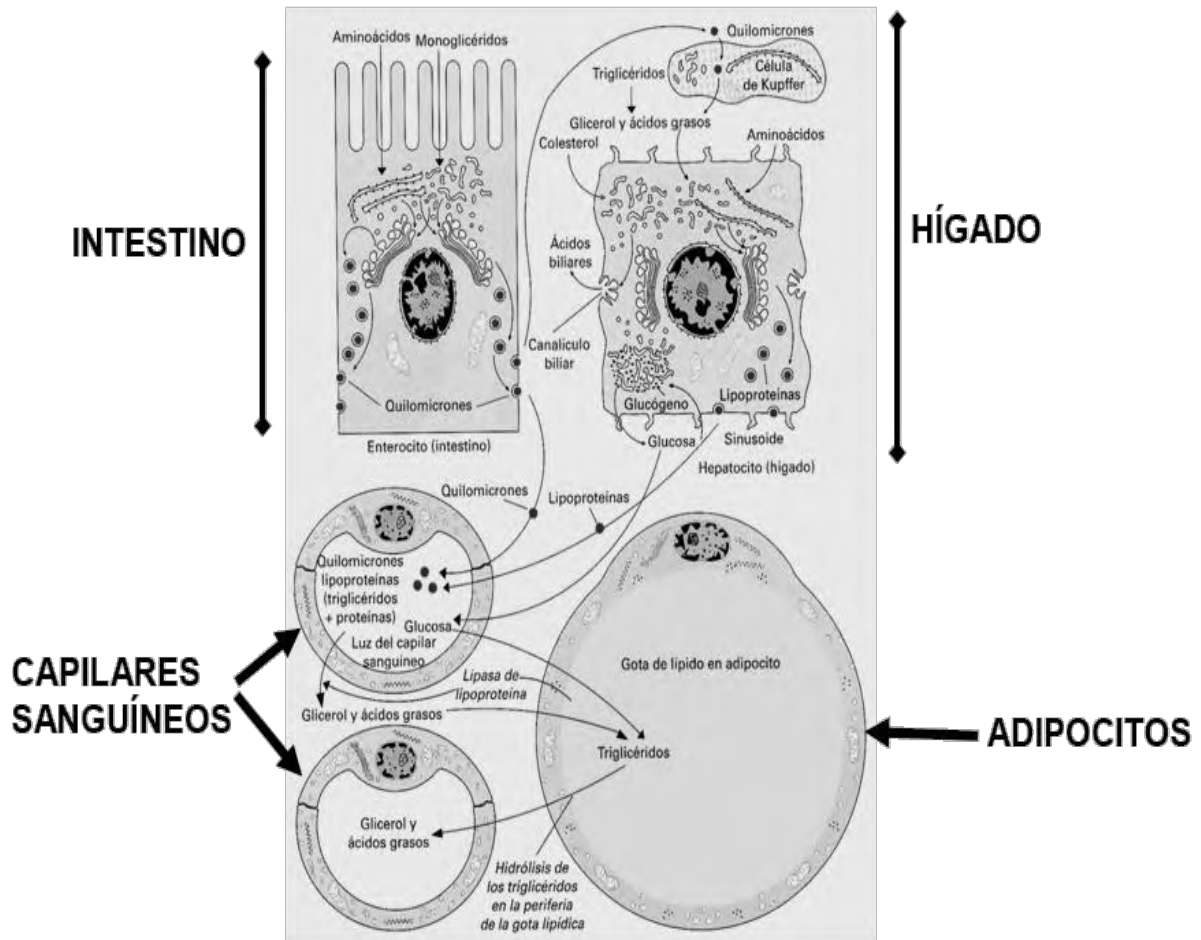
En la actualidad, la posibilidad más aceptada es la de que existen dos procesos de formación del tejido adiposo. En el primero de ellos, que tiene lugar en fases relativamente precoces del desarrollo fetal y que se denomina *formación de grasa primaria*, aparecen agrupaciones con aspecto glandular formadas por células precursoras *epiteloides* en localización específica. Estas células acumulan múltiples gotas de grasa y se convierten en tejido adiposo pardo. En fases más avanzadas del desarrollo fetal y en la primera parte del periodo postnatal, se diferencian otras células precursoras *fusiformes* en muchas zonas del tejido conjuntivo, y estas células acumulan lípidos que, en última instancia, dan lugar a una gran gota lipídica en cada célula. Éste segundo proceso en la formación del tejido adiposo, denominado *formación de grasa secundaria*, es el responsable de los depósitos ampliamente distribuidos de grasa unilocular que presenta el ser humano adulto.<sup>2</sup>

Fisiológicamente, el tejido adiposo almacena en las células adiposas principalmente grasas neutras (ésteres de ácidos grasos y glicerol) o triglicéridos; estos ácidos grasos almacenados se originan del siguiente modo:

Tras la ingesta del alimento, las grasas de la dieta son degradadas en el duodeno por la enzima pancreática *lipasa*, formándose ácidos grasos y glicerol. Éstos compuestos son captados por las células epiteliales intestinales, en cuyo interior se recombinan y forman grasas neutras (triglicéridos). A su vez, los triglicéridos son liberados a través de la membrana basolateral de la célula y transportados por la linfa hasta el torrente sanguíneo en forma de gotitas diminutas llamadas *quilomicrones* (Figura 1-6). Al llegar a los capilares del tejido adiposo, los quilomicrones quedan expuestos a la enzima *lipoproteína lipasa*, que permanece unida a la superficie luminal de las células endoteliales que revisten éstos capilares.

La lipoproteína lipasa degrada los quilomicrones liberando ácidos grasos que son captados por las células adiposas y combinados con glicerol endógeno para formar triglicéridos; por su parte, éstos se añaden a la gota de lípido para su almacenamiento. Los triglicéridos también pueden ser sintetizados por las células adiposas a partir de glucosa, proceso acelerado por la glucosa y

aminoácidos transportados por la sangre, procedentes de la digestión de los carbohidratos y proteínas de la dieta.



**Figura 1-6.** Representación esquemática del transporte de grasa desde la luz intestinal hasta el almacenamiento en los adipocitos. Cortesía de Villena AJ. Curso de docencia de citología e histología 2005-2006.

Los lípidos se movilizan mediante mecanismos neurogénicos y humorales que conducen a la liberación de ácidos grasos y glicerina, los cuales pasan posteriormente a la sangre. El tejido adiposo al ser estimulado por la adrenalina, mediador químico, liberado por las terminaciones posganglionares de los nervios simpático del tejido adiposo, activa a la enzima lipasa, que hidroliza inicialmente a los triglicéridos superficiales de la gotita lipídica. Los ácidos grasos, que son casi insolubles en el plasma, se unen a moléculas de albúmina y son transportados a otros tejidos, donde serán utilizados como

fuerza energética. La glicerina, muy soluble en el plasma, es captada por el hígado y es reutilizada.

El metabolismo del tejido adiposo es complejo, intervienen también, la hormona del crecimiento, los glucocorticoides, la insulina y la hormona tiroidea. La eliminación de los lípidos en caso de necesidad no se hace con igual intensidad en todos los lugares del organismo. Primero, se movilizan los depósitos subcutáneos, los del mesenterio y los retroperitoneales, mientras que en el tejido adiposo localizado en las almohadillas de las manos y de los pies puede resistir grandes periodos de desnutrición.

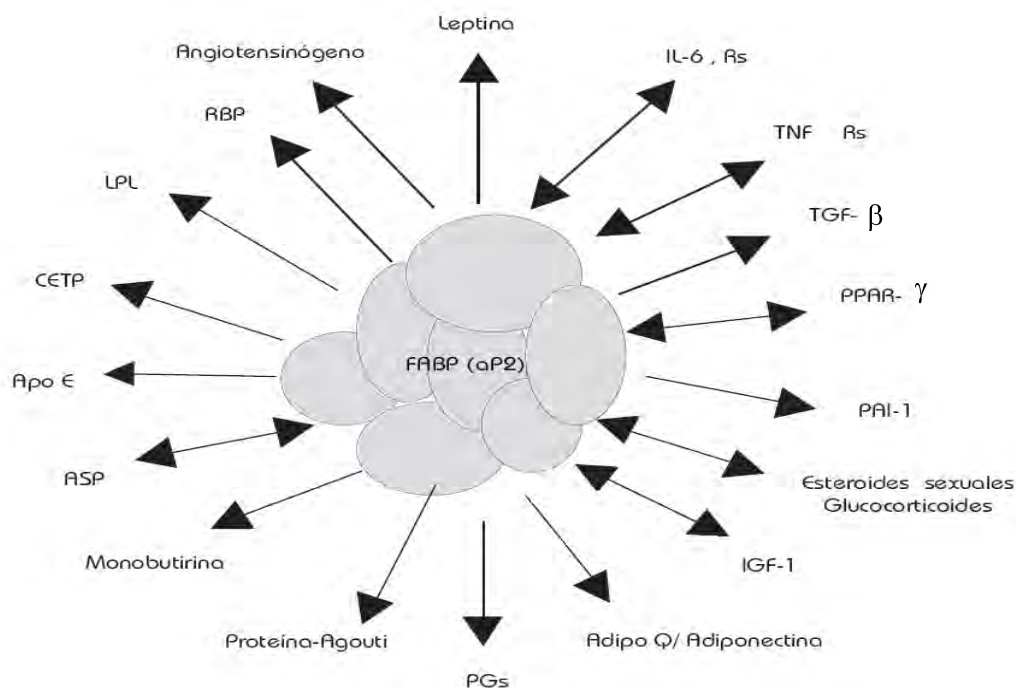
## **A. 2. EL ADIPOCITO COMO ÓRGANO ENDOCRINO.**

La consideración del tejido adiposo como reservorio de energía ha venido cambiando con los años y desde 1987 se consideró como el principal sitio de producción de esteroides sexuales.<sup>5</sup> Posteriormente, en 1994, se identificó la leptina, una hormona producida principalmente en el adipocito, que condujo al establecimiento del tejido adiposo como órgano endocrino.<sup>6</sup> Este tejido no sólo está conformado por adipocitos maduros, sino también por fibroblastos, células endoteliales y macrófagos, los cuales constituyen cerca del 50% de su contenido celular total. Todas son células altamente activas y funcionan como una unidad integrada.

El concepto de tejido adiposo en la actualidad lo reconoce como un órgano multifuncional, con alta actividad metabólica y como un órgano endocrino importante, capaz de establecer comunicación con el resto del cuerpo mediante la síntesis y la liberación de moléculas activas llamadas adipocinas, las cuales actúan localmente y a distancia por medio de efectos autócrinos, paracrinos y endocrinos.<sup>7</sup> El tejido adiposo es muy activo, produce distintos tipos de citocinas o péptidos de regulación; entre las sustancias que libera se encuentran: la leptina, adiponectina, resistina, interleucina 6 (IL-6), IL-18, angiotensinógeno, hormonas esteroidales, adiposina y el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$  por sus siglas en inglés) entre otras.<sup>8</sup>

Para mantener las funciones normales del cuerpo cada uno de los adipocitos secreta diversas citocinas y sustancias bioactivas a los alrededores cercanos. Aunque cada adipocito produce una pequeña cantidad de adipocitocinas, como tejido adiposo se regula como cualquier otro órgano en el cuerpo humano, su impacto es de gran importancia en funciones corporales. Además, como el tejido adiposo es abastecido por un abundante flujo sanguíneo libera en él, adipocinas que fluyen a la circulación sistémica.

Hasta ahora, muchas adipocinas han sido identificadas (Figura 1-7) y determinadas en cuanto a su función en el organismo, todas ellas integradas en una red de comunicaciones con otros tejidos y órganos semejantes como el músculo esquelético, corteza adrenal, cerebro, sistema nervioso simpático; participando de forma activa en el control del apetito, sensibilidad a la insulina, balance de energía, regulación inmune, angiogénesis, presión sanguínea, metabolismo de los lípidos y homeostasis entre otras.<sup>9</sup>



**Figura 1-7.** Hormonas, citocinas y otras moléculas que se producen y secretan por el tejido adiposo blanco, implicadas en procesos de regulación metabólica, neuroendocrina, inmunológica y cardiovascular. Abreviaturas: ASP, proteína estimuladora de acilación; Apo E, apolipoproteína E; Adipo Q, proteína del adipocito relacionada al complemento; CETP, proteína translocadora de ésteres de colesterol; FABP, proteína que se une a ácidos grasos; IGF-1, factor de crecimiento similar a insulina; IL-6, interleucina 6; LPL, lipasa de lipoproteínas; PAI-1, inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; PG, prostaglandina; PPAR $\gamma$ , receptor gamma para el activador del proliferador del peroxisoma; RBP, proteína que se une a retinol; Rs, receptores; TGF  $\beta$ , Factor de crecimiento transformante beta; TNF- $\alpha$ , Factor de necrosis tumoral alfa. Las flechas de un solo sentido indican efectos endocrinos y las de doble sentido efectos autocrinos y paracrinos.

Así, por ejemplo, los adipocitos son capaces de expresar y secretar un número considerable de hormonas, citocinas y péptidos que ayudan al mantenimiento de la homeostasis; péptidos vasoactivos cuyos productos proteolíticos regulan el tono vascular; la leptina que tiene un rol central en la regulación del balance energético. También son capaces de producir hormonas esteroideas activas, incluyendo estrógenos y cortisol, por la conversión de los precursores androgénicos y los glucocorticoides inactivos respectivamente; además, libera una variedad de factores proinflamatorios e inflamatorios, incluyendo en éstos procesos a la leptina, adiponectina, resistina y visfatina, así como citocinas y quimiocinas tales como el TNF- $\alpha$ , IL-6, monolitos entre otros.<sup>10, 11</sup>

Por otro lado, el tejido adiposo está estrechamente regulado por la actividad metabólica de muchas hormonas. Cada hormona tiene un efecto peculiar de acuerdo a la expresión de su respectivo receptor y esto varía según la edad y el género y expresa un comportamiento diferente en la distribución del tejido adiposo. Estas particularidades regulan dos procesos notoriamente importantes como lo son la síntesis y acumulación del tejido adiposo (lipogénesis) y su degradación y gasto (lipólisis). Hay también muchas diferencias entre estos dos procesos en posiciones anatómicas diferentes como lo es la grasa subcutánea y la grasa visceral. Estos efectos dependen en gran medida de la actividad de la lipoproteína lipasa y lipasa sensible a hormona (LPL y HSL por sus siglas en inglés respectivamente).<sup>12</sup>

## **B. LOS CARBOHIDRATOS COMO FUENTE DE ENERGÍA EN LA DIETA DIARIA.**

El estudio de los factores nutricionales y su influencia sobre la salud ha cobrado gran auge en las últimas tres décadas. Se ha hablado mucho sobre las virtudes terapéuticas o preventivas de los principios activos de ciertos alimentos funcionales. Los alimentos funcionales son aquellos que se consumen en la dieta diaria e independientemente de sus características nutricional y esencial, contienen uno o varios compuestos con efecto benéfico para la salud, o ciertas propiedades terapéuticas y/o preventivas que reducen el riesgo de llegar a padecer problemas de salud.<sup>13</sup> Los nutrimentos son sustancias químicas de los alimentos que procuran energía, y elementos para la formación de nuevos componentes corporales, o facilitan los procesos del organismo. Existen seis clases de nutrimentos: carbohidratos, lípidos, proteínas, minerales, vitaminas y agua.<sup>14</sup>

Los carbohidratos (también conocidos como azúcares) se consumen como parte de la dieta, de manera particular, son un enorme grupo de compuestos orgánicos muy diversos presentes en el organismo, cumplen varias funciones importantes aparte de proveer la mayor parte de las calorías de la dieta. Así mismo sabemos que, si se consume fructosa ó azúcar comercial en cantidades recomendables (100g/día/adulto) contribuye a la densidad energética global de la dieta promoviendo un balance energético positivo que sirve como reserva (glucógeno) del organismo. Además de éstas propiedades importantes, la mayoría de ellos que asimila el organismo cumplen con una actividad biológica, por ejemplo, se biotransforman para producir otros metabolitos como son: las grasas (un exceso de glucógeno puede transformarse en ácidos grasos y glicerina), aminoácidos esenciales, los no esenciales y/o en otros carbohidratos como moléculas fundamentales para diversos fenómenos genéticos y en la síntesis de proteínas.<sup>14, 15</sup>

Los carbohidratos constituyen la principal fuente de energía en la dieta de la mayoría de los individuos. Son considerados como nutrientes no esenciales, ya que pueden ser sintetizados en el organismo a partir de otros

compuestos. Se recomienda que entre el 50 y el 60% de las calorías totales de la dieta provengan de la oxidación de los carbohidratos, sin embargo este porcentaje varía ampliamente entre diferentes poblaciones según sus patrones de alimentación. Aunque el hombre puede sintetizar la mayor parte de los carbohidratos, una buena parte los obtiene de fuentes vegetales. La cantidad mínima requerida por el organismo para suplir las necesidades de las células nerviosas, los glóbulos rojos y la médula ósea es de aproximadamente 180g, de los cuales el organismo puede sintetizar unos 130g/d, por lo que los restantes 50g deben ser suministrados en la dieta.

De la variedad de polisacáridos del mundo biológico, el hombre sólo digiere unos cuantos: almidón, sacarosa, glucosa, lactosa y fructosa, entre otros. De éstos, los que actualmente forman parte importante de la dieta, son la sacarosa y la fructosa que son preferidas por la población debido a su característica edulcorante que dan al consumirse.<sup>16</sup> La sacarosa se encuentra en muchos jugos de plantas como la caña o la remolacha azucarera; ó refinados como por ejemplo el azúcar blanco cristalizado, azúcar glass, azúcar morena, piloncillo, bebidas carbonatadas, entre otros derivados. La fructosa, se encuentra en frutas maduras como manzanas, uvas, naranjas, sandías, en la miel y sus derivados, así también, juntas en los distintos alimentos, en los vegetales se puede contener 1 ó 2% de fructosa libre y arriba del 3% de sacarosa.<sup>17</sup>

Al igual que la sacarosa, la fructosa se encuentra en el grupo de edulcorantes nutritivos reconocidos por la FDA (Food and Drug Administration). Estos edulcorantes tienen propiedades funcionales de acuerdo a sus características físicas (cristalización, viscosidad), microbianas (preservación, fermentación) y químicas (caramelización, antioxidante).<sup>18</sup> Ambos azúcares proveen de 4 kcal/g; sin embargo, una de las características principales de la fructosa es su poder edulcorante de 173%, en tanto para la glucosa es de 74% y de 100% para la sacarosa, además de que presenta sinergia con otros edulcorantes.<sup>19</sup>

## B. 1. DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS.

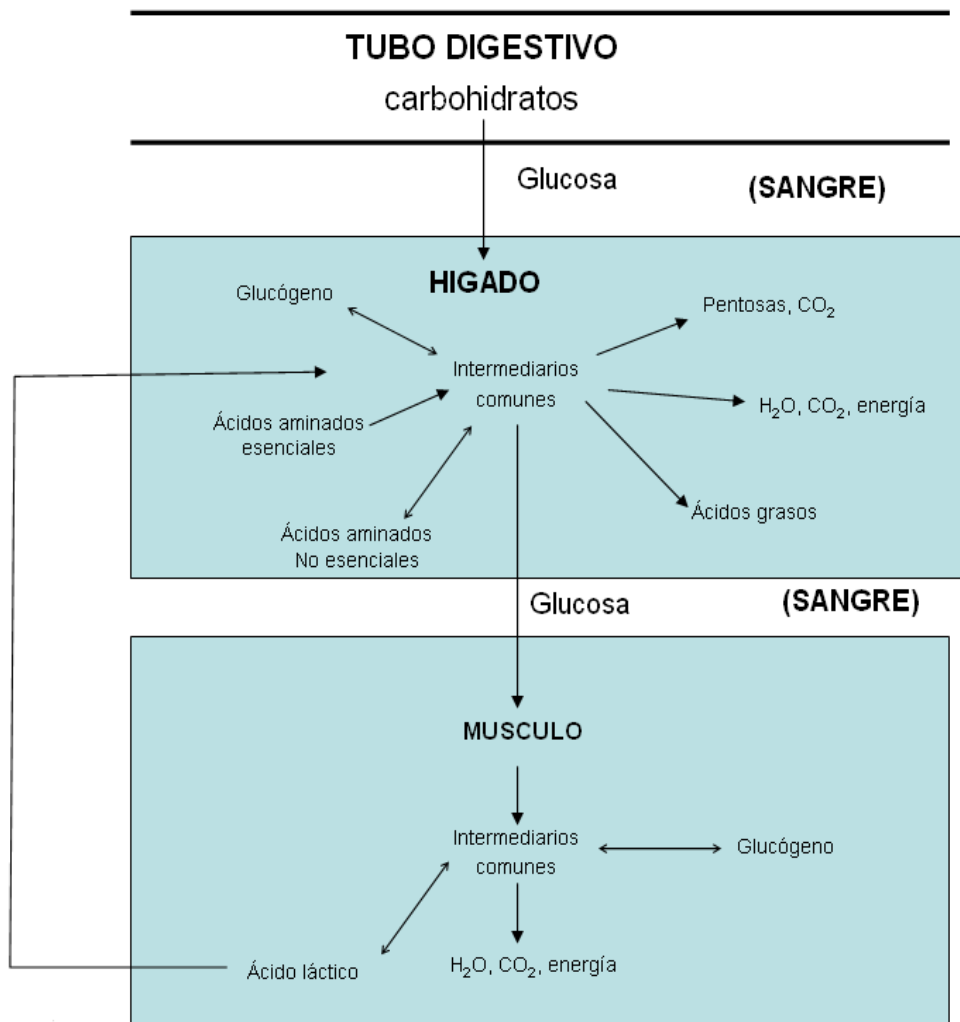
Los alimentos que se consumen por lo regular contienen carbohidratos de grandes cadenas (polisacáridos) ó como disacáridos y en menor cantidad como monosacáridos, que entran a la boca, y durante la masticación, los alimentos se mezclan con la saliva que humedece y lubrica el bolo alimenticio, además provoca la separación de las cadenas de polisacáridos a disacáridos por medios de una hidrólisis enzimática producida por la enzima amilasa que forman parte de la composición de la saliva. Luego, los disacáridos son hidrolizados produciendo los monosacáridos respectivos (por ejemplo, la sacarosa produce una glucosa y una fructosa) en el borde del cepillo de las células del epitelio intestinal, que luego las absorben.<sup>20</sup>

Además, de la velocidad de absorción de los monosacáridos, intervienen otros fenómenos, entre ellos, la simple difusión. Por ejemplo, la velocidad de absorción de estos monosacáridos no guarda relación con su cantidad o su concentración en el intestino, como sería el caso si la absorción se debiera a la difusión solamente. Por lo que, se cree que, además de la difusión, intervienen hasta cierto grado un *sistema de transporte* para la absorción de la glucosa y la galactosa. Un sistema de transporte exige la existencia de portadores, que lleven a cabo el paso de sustancias de un lado de una membrana al otro, con un gasto de energía.

Éste proceso de transporte activo, depende del sodio, compartido por la glucosa y la galactosa; la fructosa y la manosa se absorben por procesos diferentes. La absorción de las hexosas (azúcares de seis átomos de carbono) es impedida por compuestos que disminuyen la disponibilidad de energía en las células ó los desacopladores de la fosforilación oxidativa (dinitrofenol). El proceso de fosforilación de las hexosas no es el principal factor que determina la velocidad de transporte de la misma; así, algunas hexosas que no se pueden fosforilar son transportadas por un proceso activo mientras que otras como la manosa, que es fosforilada, no se transporta activamente.<sup>21</sup>



Si la alimentación y la función intestinal son normales, la absorción de monosacáridos en el intestino delgado es casi completa. Los monosacáridos pasan a la sangre porta, que llega directamente al hígado. En éste órgano, son oxidados para producir energía, o se transforman en ácidos grasos u otras sustancias, se almacenan como glucógeno en los músculos, o pasa a la circulación general para ser utilizada por otros tejidos (Figura 2-1).<sup>20</sup> En otras palabras el hígado ejerce un control muy importante sobre el nivel sanguíneo de azúcar y el metabolismo de carbohidratos en el organismo, pues de él depende la elección inicial de la vía que habrán de seguir los monosacáridos.

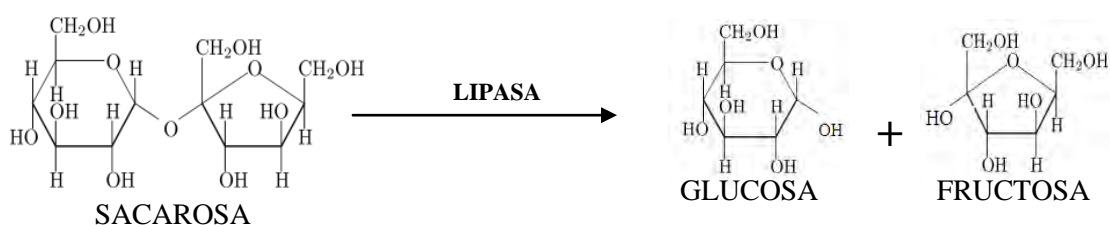


**Figura 2-1.** Resumen general del proceso de digestión, absorción y metabolismo de los carbohidratos. El monosacárido expresado es la glucosa, sin embargo puede ser otro tipo de monosacárido. Modificado de Toporek M. 1983.

## B. 2. LA SACAROSA.

**B.2.a. Propiedades fisicoquímicas.** La sacarosa, mejor conocida como azúcar de caña, sucrosa ó azúcar común es un disacárido de la glucosa y la fructosa. Tiene una fórmula química  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , un peso molecular de 342.3 g/mol y su nombre químico es  $\beta$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D-glucopiranosido. Son cristales brillantes incoloros o blancos, masas o terrones blancos cristalinos o polvo cristalino, blanco. Estable al aire; muy soluble en agua, más en agua hirviendo, ligeramente soluble en etanol; casi insoluble en cloroformo y éter. Al contrario de muchos disacáridos y oligosacáridos, la sacarosa no contiene átomo de carbono anomérico libre; los de ambos azúcares se encuentran unidos entre sí. La sacarosa no es, por tanto, ni un hemiacetal ni un hemicetal. No experimenta mutarrotación ni reacciona con la fenilhidracina para formar osazonas, y no es un azúcar reductor. Tiene una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{20} = +66.2^\circ$  a  $+66.8^\circ$ .<sup>22</sup>

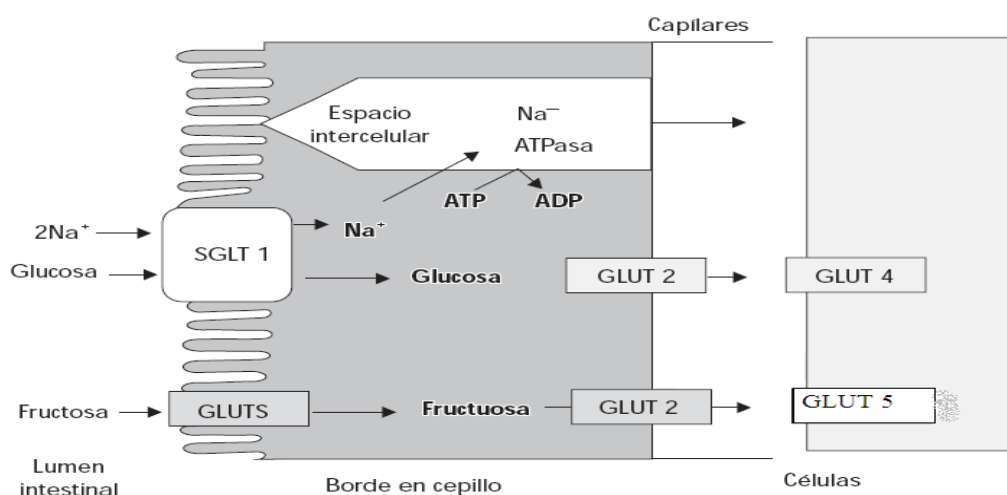
**B.2.b. Metabolismo.** La sacarosa como disacárido para su metabolismo tiene que ser primeramente hidrolizada por enzimas apropiadas (lipasa como ya se mencionó ó amilasa pancreática) provenientes de la saliva o de las superficies mucosas del intestino delgado quedando como productos de la hidrólisis la fructosa y la glucosa (Figura 2-2). Los monosacáridos derivados de ésta reacción hidrolítica son entonces absorbidos por las células epiteliales del yeyuno.



**Figura 2-2.** Hidrólisis de la sacarosa por medio de la lipasa que la divide en dos monosacáridos derivados de esta reacción.

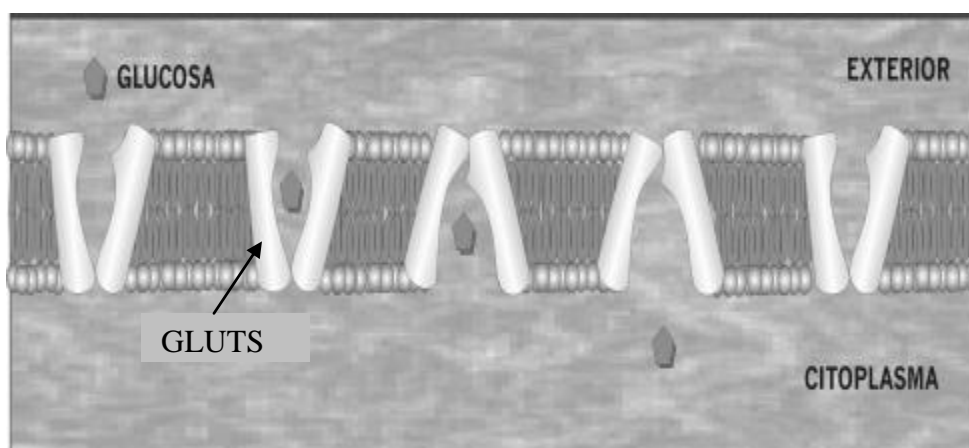
Dos mecanismos son responsables de la absorción de los monosacáridos, por un lado, para la glucosa es un transporte activo contra un gradiente de concentración en donde existe un gasto de energía, y por el otro, para la fructosa (que se verá más adelante), la simple difusión. Las causas por las que la glucosa tiene que pasar por medio de un transporte activo son debidas a sus características químicas, ya que ésta presenta un anillo piranósico y un grupo metilo sustituido en el carbono cinco.

Para explicar la absorción activa de la glucosa ha sido postulado un portador móvil que se combina tanto con la glucosa como con el  $\text{Na}^+$  en sitios separados transportando a los dos a través de la membrana plasmática de la célula intestinal; éste transporte lo realizan dos grupos de proteínas: los transportadores SGLT (*sodium-glucose transporters*) de los que actualmente se han identificado tres y los transportadores GLUT (*glucose transporters*) que se han identificado hasta ahora 13.<sup>23</sup> El  $\text{Na}^+$  es transportado siguiendo su gradiente de concentración; al mismo tiempo el portador transporta a la glucosa contra su gradiente. La energía libre requerida para éste transporte activo se obtiene de la hidrólisis del ATP vinculado a una bomba de sodio que expelle  $\text{Na}^+$  de la célula (Figura 2-3). Posteriormente, la glucosa entra por un mecanismo de transportadores de GLUT 4 que es dependiente de insulina, en tanto que la fructosa entra vía GLUT 5 sin requerir de insulina.



**Figura 2-3.** Mecanismo de transporte. Diferencias en el transporte de glucosa y fructosa a través del epitelio intestinal y su entrada a las células. Modificado de Pérez CE y col. (Endocrinología y Nutrición. 2007; 15(2): 69).

Los GLUT presentan una conformación proteica similar; son glicoproteínas de 45 a 55 kDa, con doce dominios transmembranales en estructura  $\alpha$  hélice. Los extremos N y C terminales, al igual que una gran asa central, se localizan en el citoplasma. Además, presentan un sitio de glicosilación en la región externa de la membrana. Cada una de las diferentes isoformas de los GLUT tiene ubicación y características cinéticas propias, adaptadas a las necesidades metabólicas de los distintos tejidos del organismo. Al parecer los segmentos transmembranales 3, 5, 7 y 11 son hidrofílicos en una cara del cilindro  $\alpha$  hélice e hidrofóbicos en la otra, por lo que forman un poro y, de esta manera, permiten el paso del monosacárido a favor de un gradiente de concentración. Para que se efectúe el ingreso de la glucosa, se deben formar previamente uniones débiles (tipo puentes de hidrógeno) entre los grupos hidroxilo y carbamino del GLUT y los grupos hidroxilo de la glucosa. La glucosa ingresa a la célula en cuatro etapas: 1) se une al transportador en la cara externa de la membrana; 2) el transportador cambia de conformación y la glucosa y su sitio de unión quedan localizados en la cara interna de la membrana; 3) el transportador libera la glucosa al citoplasma, y 4) el transportador libre cambia nuevamente de conformación, expone el sitio de unión a la glucosa en la cara externa y retorna a su estado inicial (Figura 2-4).<sup>24</sup>



**Figura 2-4.** Mecanismo propuesto para el ingreso de glucosa a la célula. Modificado de Díaz HD y col. (IATREIA. 2002; 15(3): 183).

Posteriormente, la glucosa puede seguir otras vías de utilización en el organismo como es su transformación en otros metabolitos (Figura 2-1), ó oxidarse para obtener energía (metabolismo aerobio y anaerobio) en donde el primer paso es la fosforilación de la glucosa en el hígado o en el interior de todas las células del organismo dando como resultado la glucosa-6-fosfato a base de una *cinasa* la cual permite mantenerla dentro de la célula, transfiriéndole un grupo fosfato del ATP a la glucosa. En éste punto puede tomar el camino de la glucogénesis; propiciando así, en un momento de escasez, el proceso de glucogenólisis para solventar el déficit de glucosa.<sup>25</sup>

Además, a partir de la glucosa-6-fosfato puede desdoblarse hasta piruvato o lactato (éste último es en caso de las levaduras) y una pequeña cantidad de energía (en ésta etapa la glucosa es metabolizada bajo condiciones anaerobias). Y finalmente puede seguir el metabolismo aeróbico (ciclo de Krebs) que es la última etapa por la que pasa la glucosa ya que se oxida completamente en H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub>, que produce una cantidad de energía mucho mayor.<sup>20</sup>

### **B.3. LA FRUCTOSA.**

**B.3.a. Propiedades fisicoquímicas.** La fructosa ó azúcar de las frutas es un azúcar simple ó monosacárido con fórmula química C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, un peso molecular de 180.16 g/mol y su nombre químico es β-D-Fructosa. Son cristales brillantes incoloros o blancos, se reduce fácilmente a sorbitol tanto *in vitro* como *in vivo*; la fructosa difiere por la presencia de un grupo ceto unido al carbono 2 de la molécula, en tanto la glucosa presenta un grupo aldehído en el carbono 1. Presenta mutarrotación y se convierte rápidamente de piranosa a furanosa y viceversa. Tiene una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{20} = -132^\circ$  como piranosa y de  $-92^\circ$  como furanosa. Muy soluble en agua.<sup>22</sup>

**B.3.b. Metabolismo.** Como se mencionó, la fructosa al estar en contacto con las células epiteliales del intestino atraviesa la membrana plasmática de la célula intestinal por medio de un mecanismo de difusión

facilitada, que le confiere una velocidad mayor para ingresar a la sangre portal que posteriormente la conducirá al hígado ó a las células, en donde entraran por un mecanismo de transporte GLUT 5 ó GLUT 2 para poder así metabolizarse.<sup>26</sup>

El GLUT 2 es una proteína de 522 aminoácidos. A diferencia de otros GLUT su afinidad por la glucosa es baja ( $K_m$ : 17mM). Transporta además de la fructosa a la galactosa; se expresa en células B pancreáticas, hepatocitos, enterocitos y en células tubulares renales. El GLUT 5 es una proteína de 501 aminoácidos prácticamente es un transportador de fructosa, ya que su afinidad por otros monosacáridos, incluyendo la glucosa, es mínima. Se localiza en el yeyuno, los espermatozoides, las células tubulares renales y las células de la microglia.<sup>27</sup>

Así, para su metabolismo, la fructosa puede ser fosforilada para formar fructosa-6-fosfato, catalizada por la enzima **fructocinasa**, también puede ser catalizada por la hexocinasa, que lleva a cabo la fosforilación de la glucosa; sin embargo, la afinidad de la enzima por la fructosa es muy pequeña comparada con su afinidad por la glucosa. La fructocinasa se encuentra en el hígado, la cual efectúa la transferencia del fosfato desde el ATP a la fructosa, formando fructosa-1-fosfato. Ésta enzima no fosforila a la glucosa y, a diferencia de la glucosinasa, su actividad no es afectada por el ayuno o por la insulina, lo que puede explicar porqué la fructosa desaparece de la sangre de los paciente diabéticos, a una tasa normal. La  $K_m$  de la fructosa de la enzima en el hígado es muy baja, indicando una gran afinidad de éstos por su sustrato.<sup>28, 29</sup>

La fructosa-1-fosfato es desdoblada por la **aldosa B**, enzima que se encuentra en el hígado. La enzima también ataca a la fructosa 1,6-bisfosfato en D-gliceraldehído y fosfato de dihidroxiacetona (la ausencia de ésta enzima produce intolerancia a la fructosa). El D-gliceraldehído puede entrar en una serie de reacciones de la glucólisis por tres rutas posibles. Una es por acción de la **alcohol deshidrogenasa** para formar glicerol, el cual en presencia de **glicerosinasa**, forma glicerol-3-fosfato. Una segunda alternativa implica a la **aldehído deshidrogenasa** que forma D-glicerol a partir del D-gliceraldehído.

Otra enzima que se haya en el hígado, la **triosinasa**, cataliza la fosforilación del D-gliceraldehído en gliceraldehído-3-fosfato. Ésta parece ser la vía principal para el metabolismo ulterior del D-gliceraldehído. Los dos triosafosfatos, el fosfato de dihidroxiacetona y el gliceraldehído-3-fosfato, pueden ser degradados por la vía Embder-Meyerhof (glucólisis) o puede combinarse por la influencia de la aldolasa y ser convertida en glucosa. Ésta última sustancia es el destino de mucha de la fructosa metabolizada en el hígado (Figura 2-5). Hay, además, la posibilidad de que la fructosa-1-fosfato pueda ser fosforilada directamente en la posición 6 para formar fructosa-1,6- bisfosfato, un intermediario de la glucólisis. La enzima que cataliza ésta reacción, **1-fosfofructosinasa**, se encuentra en el músculo e hígado.<sup>28, 29</sup>

Los estudios han indicado que la fructosa es metabolizada activamente por el tejido adiposo y que es metabolizada independientemente de la glucosa. En concentraciones bajas la fructosa es utilizada por el tejido adiposo más lentamente que la glucosa; en concentraciones altas, la fructosa es metabolizada a una velocidad más alta que la glucosa. Además, tiene una menor respuesta (en concentraciones normales) glucémica, insulinogénica, mayor velocidad de vaciamiento gástrico,<sup>30</sup> anticetogénica, media la resistencia a la insulina, muy lipogénica (aumento de triglicéridos, uratos y lactatos) y en un abuso en el consumo puede contribuir al desarrollo de patologías crónico degenerativas como obesidad, diabetes, hipertensión, síndrome metabólico, estrés oxidativo, insulina resistencia, hiperglucemia, enfermedades en los riñones, alteraciones cardiovasculares, entre otros.<sup>31-32</sup>





#### **B. 4. IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS DEL ADIPOCITO SOBRE LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA.**

A pesar de la ingesta intermitente de carbohidratos en la dieta, los niveles de glucosa sanguínea permanecen relativamente estables durante el día, lo que requiere de acciones concertadas de diferentes tejidos. Como respuesta a la elevación de glucosa que ocurre después de comer, las células pancreáticas secretan insulina, la cual promueve el depósito de glucosa en el tejido adiposo y en el músculo como glucógeno, e inhibe la producción de glucosa por el hígado, por supresión de la glucogenólisis y de la gluconeogénesis.<sup>33</sup> De otra parte, los bajos niveles de insulina en el estado de ayuno, combinados con una elevación de las hormonas contra regulatorias como el glucagón producido por el páncreas, la adrenalina producida por la médula de la cápsula suprarrenal y los glucocorticoides producidos por la corteza suprarrenal, promueven la producción hepática de glucosa.<sup>20</sup>

Posteriormente con la consolidación del tejido adiposo como órgano endocrino y como regulador de procesos fisiológicos se planteó inicialmente, la idea de que el tejido adiposo pudiese tener un considerable efecto en el control glucémico global, aunque no fue fácil de aceptar, pero los estudios iniciales determinaron que el tejido adiposo sólo representaba una fracción de la distribución después de una comida (cerca del 10% al 15%), siendo captada por el músculo la mayor parte.<sup>34</sup> Sin embargo, se fue haciendo evidente que las alteraciones en la adiposidad tenían profundas implicaciones en la homeostasis de la glucosa: demasiada grasa (obesidad) y muy poca (lipodistrofia) se asociaban con insulino resistencia y con hiperglucemia. Ahora, ya se entiende que el profundo efecto de los adipocitos en el balance de glucosa está mediado por varios mecanismos, dentro de ellos el papel vital de las adipocinas, ya sea ejerciendo efectos antihiperglucémicos como lo hacen la leptina, la adiponectina, la visfatina y la omentina, o bien, con efectos prohiperglucémicos como lo hacen la resistina, el TNF- $\alpha$ , la IL-6 y el RBP-4 (proteína que se une a retinol).

La *leptina* tiene capacidad en el ratón *Ob/Ob*<sup>35</sup> (ratón genéticamente obeso debido al gen *Ob*) de revertir la hiperglucemia, incluso antes de corregir el exceso de peso y mejora la homeostasis de glucosa en el ratón lipodistrófico y en humanos con lipodistrofia, o con deficiencia congénita de leptina. Las acciones antihiper glucémicas de la leptina están mediadas por diferentes órganos. Es así como mejora la insulino sensibilidad, al disminuir los lípidos en el músculo esquelético, en el hígado y en las células beta pancreáticas, por una activación directa de la proteína quinasa activada por AMP y por la inhibición de la malonil coenzima-A y por acciones indirectas mediadas en las vías neurales simpáticas, estimulando receptores adrenérgicos que incrementan el transporte de los ácidos grasos a la mitocondria para la beta oxidación.<sup>35</sup>

La *adiponectina* mejora la sensibilidad a la insulina, desciende el flujo de ácidos grasos libres e incrementa su oxidación, inhibe las principales enzimas gluconeogénicas hepáticas, reduce la liberación hepática de glucosa y en el músculo, estimula el uso de glucosa y la oxidación de los ácidos grasos, efectos que en parte están mediados por la activación de la AMPK (*adenosin monofosfato protein quinasa*)<sup>8</sup>. Además, favorece el desplazamiento de los transportadores de glucosa, sobre todo de GLUT 4 a la superficie. La *visfatina* promueve la acumulación de triglicéridos, acelera la síntesis de triglicéridos desde glucosa; además, mediante una reducción en la liberación de glucosa de los adipocitos y el estímulo de su utilización en la periferia, disminuye también la glucemia.<sup>36</sup> La última de las adipocinas con efecto positivo sobre la homeostasis de glucosa es la *omentina*, que al igual que la visfatina tiene efectos positivos en la captación de glucosa, aunque funciona como un sensibilizador de insulina y tiene propiedades insulina miméticas.<sup>37</sup>

Los niveles de *TNF- $\alpha$*  en el hígado, suprimen la expresión de genes comprometidos en la captación y metabolismo de glucosa y en la oxidación de ácidos grasos e incrementa la expresión de genes comprometidos en la síntesis de novo de colesterol y de ácidos grasos.<sup>8</sup> La *IL-6* también influye en la tolerancia a la glucosa mediante una regulación negativa de visfatina.<sup>38</sup> Mientras que la *resistina* podría estar implicada en la reducción de la captación de glucosa por los músculos y la grasa, pero con un efecto menos vigoroso que

en el hígado, en donde incrementa su liberación.<sup>39</sup> La *angiotensina II* inhibe la lipólisis, promueve la lipogénesis, desciende la captación de glucosa dependiente de insulina e incrementa la gluconeogénesis hepática y la glucogenólisis.<sup>40</sup> La última de las adipocinas que influye negativamente el metabolismo de glucosa es la *RBP-4*, cuya sobre expresión desmejora la acción de la insulina en el músculo y en el hígado. Su mecanismo de acción no está dilucidado y no es claro si el proceso compromete un ligando retinoide, o algún otro mecanismo.<sup>41</sup>

### **C. GENERALIDADES DEL APARATO CIRCULATORIO.**

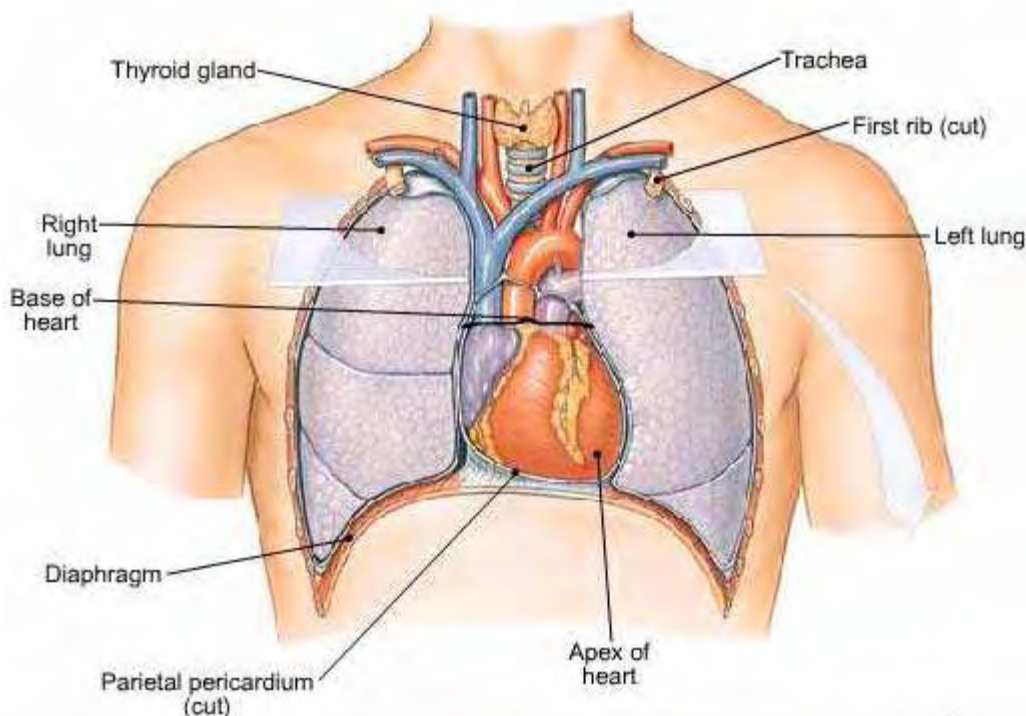
El aparato circulatorio comprende los sistemas vasculares sanguíneos y linfáticos. El sistema vascular sanguíneo está formado por:

- *Corazón*: órgano central del sistema circulatorio, cuya función es la de hacer circular la sangre por todo el organismo.
- *Arterias*: vasos eferentes que disminuyen de calibre a medida que se ramifican profusamente. Transportan la sangre y, por medio de ella, llevan el alimento y el oxígeno a los tejidos.
- *Capilares*: una red difusa de túbulos delgados que se anastomosan profusamente; a través de cuyas paredes se realiza el intercambio metabólico entre la sangre y los tejidos.
- *Venas*: vasos aferentes al corazón, en donde los capilares se fusionan gradualmente y canalizan su contenido.

Con el corazón como punto de partida, los vasos sanguíneos conforman dos circulaciones de las cuales la **circulación pulmonar** o pequeña circulación transporta la sangre hacia los pulmones y de regreso al corazón, mientras que la **gran circulación** transporta la sangre hacia todos los demás tejidos del organismo y de regreso al corazón.<sup>33</sup>

### C. 1. ANATOMIA E HISTOFISIOLOGIA DEL CORAZÓN.

Es un órgano muscular hueco que bombea la sangre a los vasos sanguíneos. Está situado en sentido oblicuo entre los pulmones, en el mediastino, y unos dos tercios de éste órgano se encuentra a la izquierda de la línea media del cuerpo (Figura 3-1). La forma del corazón es la de un cono trunco, y su tamaño equivale al del puño cerrado, es decir, unos 12 cm de largo, 9 cm de ancho y 6 cm de profundidad. El *ápice* (vértice), o extremo puntiagudo del corazón se proyecta en sentido anteroinferior, y hacia el lado izquierdo está situado por arriba de la zona central del diafragma. En dirección anterior, el ápice se localiza a nivel del quinto espacio intercostal, a unos 7.5 a 8 cm de la línea media del cuerpo.<sup>42</sup>



**Figura 3-1.** El corazón está situado en la parte central del tórax (mediastino), entre los dos pulmones, apoyándose sobre el músculo diafragma y precisamente sobre la parte central fibrosa de este músculo; está en una situación no totalmente medial, ya que en su parte inferior está ligeramente inclinado hacia el lado izquierdo (cerca de un cuarto a la derecha y tres cuartos a la izquierda de la línea medial). Modificado de Fuentes SR. 2006.

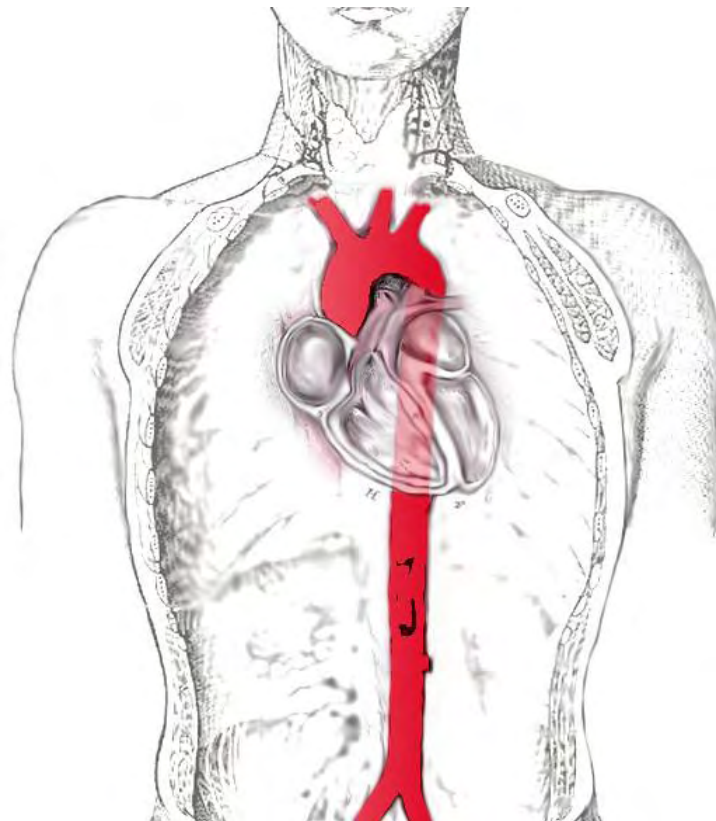
Aunque el *borde izquierdo* está formado en su mayor parte por el ventrículo izquierdo, también incluye el atrio del mismo lado. La *base* del corazón sobresale en sentido posterosuperior, hacia el lado derecho del cuerpo, y está formado por los dos atrios, sobre todo por el izquierdo; su parte posterior está por delante de las vértebras torácicas quinta a novena, y en sentido anterior, se localiza por debajo de la segunda costilla. El *borde derecho* corresponde a una línea curva trazada desde la articulación esternal inferior hasta la parte media del tercer cartílago costal derecho.<sup>42</sup>

La pared del corazón está dividida en tres capas: el epicardio o externa, el miocardio o media, y el endocardio o interna; el *epicardio*, la capa más externa y es la membrana serosa del corazón, que forma el revestimiento visceral del pericardio. Se presenta cubierto externamente por un epitelio pavimentoso simple (mesotelio), apoyado en una delgada capa conjuntiva. Una capa subepicárdica constituida por conjuntivo laxo contiene vasos, nervios y ganglios nerviosos. En esta capa se acumula el tejido adiposo que generalmente recubre ciertas regiones del corazón. El *miocardio*, que está compuesto por el músculo cardíaco, constituye la mayor parte de éste órgano. Las fibras musculares cardíacas son involuntarias, estriadas y ramificadas, y están dispuestas en haces que se entrelazan; el miocardio efectúa las contracciones del corazón.<sup>43</sup>

El *endocardio*, por su parte, es una delgada capa de endotelio que recubre a otra de tejido conectivo, que está perforada por pequeños vasos sanguíneos y haces de músculo no estriado (liso). El endocardio constituye un recubrimiento interno del miocardio y cubre a las válvulas del corazón y a los tendones que las mantienen en posición adecuada; la capa endotelial es continuación de la estructura similar de los grandes vasos que llegan al corazón o salen de él.<sup>42,43</sup>

## C. 2. ANATOMIA E HISTOFISIOLOGIA DE LA AORTA.

Emerge de la porción superior del ventrículo izquierdo, algo a la derecha y atrás de la arteria pulmonar. Este origen marcado en su interior por la presencia de las válvulas sigmoideas que interceptan los senos aórticos (de Valsalva), los que en su superficie externa se manifiestan como una dilatación, por encima de los cuales la aorta origina las dos arterias coronarias derecha e izquierda. A partir de la 4ª vértebra torácica desciende verticalmente en el tórax para situarse delante de las vértebras torácicas inferiores (Figura3-2). Atraviesa el diafragma y desciende en el abdomen delante de la columna lumbar, en el retroperitoneo, y termina a la altura de la 4ª vértebra lumbar, originando dos arterias ilíacas comunes y la arteria Sara mediana. De acuerdo con el trayecto de la aorta se describen tres segmentos: cayado aórtico, aorta torácica ó descendente y aorta abdominal.<sup>44</sup>



**Figura 3-2.** Esquema general de la ubicación de la aorta. La aorta es la principal arteria del cuerpo humano. Sale directamente del ventrículo izquierdo del corazón y, formando un arco, desciende hacia el abdomen donde, a la altura de la IV vértebra lumbar, se bifurca en dos arterias más pequeñas, las ilíacas primitivas. Modificados de Latarjet M y Ruíz LA. 2006.



La aorta es una arteria elástica que posee un diámetro superior a 10mm; de modo general, está compuesta por tres capas concéntricas: túnica íntima, túnica media y túnica adventicia. La *túnica íntima* (túnica interna) presenta una capa de células endoteliales que revisten la superficie interna del vaso. Este endotelio se apoya en la *capa subendotelial*, que consiste en tejido conjuntivo laxo, muy delicado y que puede presentar, a veces, células musculares lisas dispersas; la capa íntima presenta también una *membrana limitante elástica interna*, que es la capa más externa de la íntima, que la separa de la media. La limitante elástica interna es tubular y perforada, lo que permite la difusión de los metabolitos de la sangre a través de los orificios para nutrir las células de la pared arterial, situadas externamente. Debido a la desaparición de la presión sanguínea y a la contracción de los vasos en el momento de la muerte, la túnica íntima generalmente se presenta con aspecto ondulatorio en los cortes (Figura 3-3).<sup>1,2</sup>

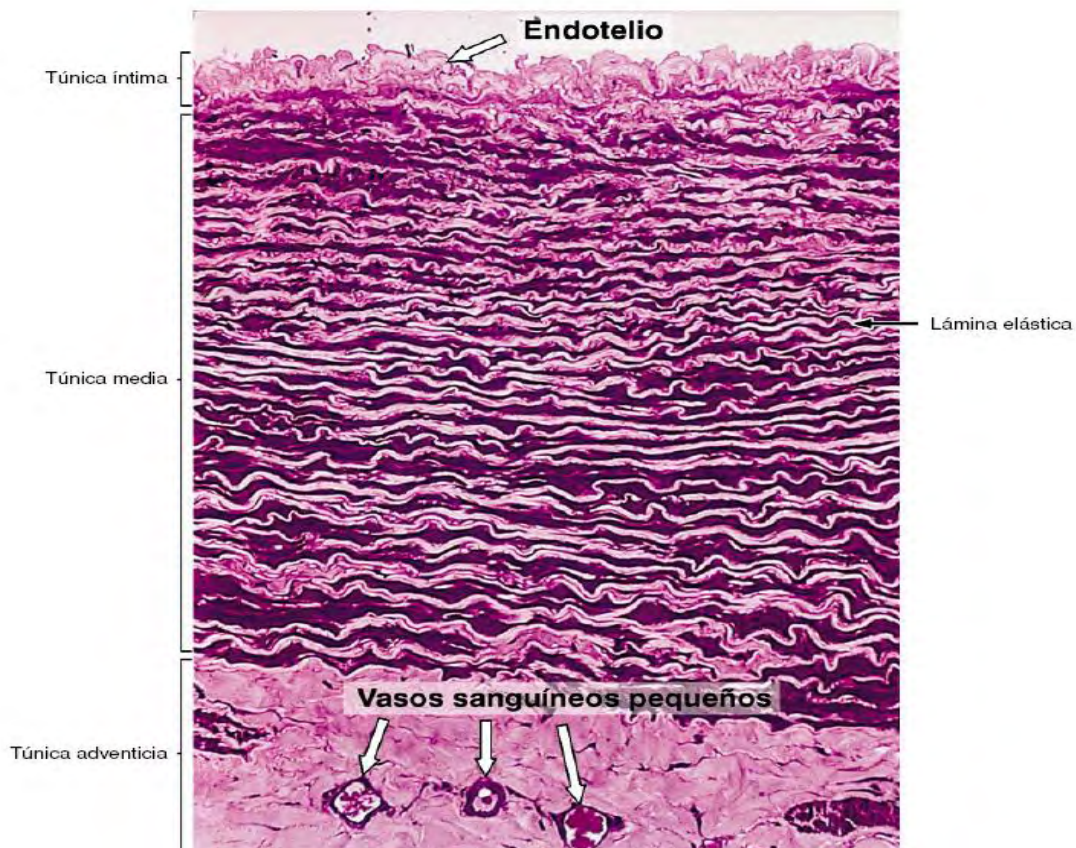


Figura 3-3. Corte transversal que muestra parte de una arteria elástica con una túnica media bien desarrollada que contiene varias láminas elásticas. Tinción de pararosanilina y azul de toluidina. Aumento mediano. Tomada de Junqueira y Carneiro, 2005.

La *túnica media* está formada principalmente por células musculares lisas, dispuestas circularmente, a las que se agregan cantidades variables de elastina, colágena y proteoglicanos. En ese lugar, las células musculares lisas, metabólicamente muy activas, son responsables de la síntesis del material extracelular (colágena, elastina y proteoglicanos). La *túnica media* también posee una *lámina elástica externa*, que la separa de la capa adventicia.<sup>45</sup>

La *túnica adventicia* consta principalmente de fibras colágenas y elásticas (Figura 3-3). Hay en ella pequeños vasos sanguíneos; en cortes adecuados pueden observarse cómo penetran hasta las capas más externas de la capa media. Reciben el nombre de *vasa vasorum* (vasos de los vasos), que son arteriolas y vénulas que se ramifican profusamente y desempeñan una función nutricional de las *túnicas adventicia* y *media*, a donde los metabolitos no llegarían por difusión a partir de la luz del vaso, debido al gran espesor de la pared.<sup>1,2,44,45</sup>

### C. 3. FLUJO SANGUÍNEO.

El flujo sanguíneo es la cantidad de sangre que pasa por un punto determinado en la circulación en un periodo dado. Habitualmente, el flujo sanguíneo se expresa en mililitros o litros por minuto o en otra unidad de flujo. El flujo sanguíneo global en la circulación de un sujeto adulto en reposo es de aproximadamente 5000mL/minuto; esto se conoce como *gasto cardiaco*, porque es la cantidad de sangre bombeada por el corazón en una unidad de tiempo.<sup>46</sup>

Cuando la sangre fluye a una velocidad constante a través de un vaso liso y largo, lo hace en corrientes continuas, permaneciendo cada capa de sangre a la misma distancia de la pared. Además, la porción central de la sangre permanece en la porción central del vaso. Éste tipo de flujo se denomina *flujo laminar* o de *corriente continua* y se opone al *flujo turbulento*, que es la sangre que fluye en todas las direcciones mezclándose continuamente dentro del vaso.



El control del flujo sanguíneo puede dividirse en dos fases: 1) control agudo, y 2) control a largo plazo. El control agudo se logra mediante variaciones rápidas del grado de constricción de las arteriolas, metarteriolas y esfínteres precapilares que se producen en segundos o minutos, como método rápido de control de un flujo sanguíneo local adecuado. Por otra parte, el control a largo plazo brinda un control mucho mejor del flujo en proporción a las necesidades de los tejidos. Estas alteraciones se producen como resultado de un aumento o disminución del tamaño físico y del número de vasos sanguíneos que irrigan los tejidos.<sup>46</sup>

#### **C. 4. PRESIÓN ARTERIAL Y FRECUENCIA CARDIACA.**

La presión arterial (PA) o tensión arterial, se define como la fuerza que ejerce la sangre contra de cualquier unidad de área de la pared del vaso.<sup>47</sup> Esta presión es imprescindible para que circule la sangre por los vasos sanguíneos y aporte el oxígeno y los nutrientes a todos los órganos del cuerpo para que puedan funcionar. En adultos jóvenes y sanos es de aproximadamente de 120 mmHg durante la sístole (contracción del corazón) mientras que desciende aproximadamente a 80 mmHg con la diástole (relajación del corazón). La presión arterial media (PAM), está determinada por el gasto cardiaco (GC), las resistencias vasculares periféricas (RVP), y responde básicamente a la ecuación:

$$PAM = GC \times RVP$$

Además del GC y RVP, existen otros dos factores directos como son: la independencia (resistencia vascular al flujo), y el volumen arterial diastólico. El GC depende del volumen sistólico y de frecuencia cardiaca (FC). A su vez, el volumen sistólico varía según la contractilidad cardiaca y el retorno venoso. Por su parte, el RVP están reguladas por factores nerviosos, humorales y locales.<sup>48</sup>

Dentro de los mecanismos que controlan la presión arterial se encuentran: mecanismos centrales (reflejo barorreceptor ó presorreceptores),

mecanismos hormonales (sistema renina-angiotensina-aldosterona) y mecanismos locales (óxido nítrico, prostaciclina, endotelina-1, factor hiperpolarizante derivado del endotelio).<sup>46,47</sup>

La frecuencia cardíaca (FC) es el número de veces que el corazón se contrae en un minuto y se expresa como latidos por minuto (lat/min).<sup>49</sup> La FC es regulada por los nervios simpáticos y parasimpáticos para el corazón, por los barorreceptores en cambios reflejos y por estímulos (ejemplo: coraje, excitación, temor, pena, etc.) que se acompañan de alza y baja de la FC; es digno de notarse que en general, los estímulos que incrementan la FC también elevan la presión sanguínea, mientras que los que disminuyen la frecuencia, abaten la presión. Así también, cuando se eleva la temperatura corporal, la FC crece, pero los vasos cutáneos se dilatan y la presión sanguínea no cambia o baja. Las hormonas tiroideas elevan la presión del pulso y aceleran el corazón potenciando la acción de las catecolaminas y posiblemente por una acción directa sobre el corazón. La adrenalina actúa directamente sobre el corazón elevando su frecuencia, pero la noradrenalina por estimulación de los barorreceptores marca una respuesta presora.<sup>48</sup>

### **C. 5. HISTOFISIOLOGÍA DEL ENDOTELIO.**

Dentro del sistema circulatorio existe una delgada capa celular de poco menos de un micrómetro de grosor, llamado endotelio, órgano multifuncional necesario para la fisiología vascular normal. Las células endoteliales, de 0.2 a 0.5mm de diámetro, son de tipo fusiforme, cuyo eje mayor tiene la misma dirección que el eje longitudinal del vaso.<sup>50</sup> Está firmemente adherida entre sí mediante firmes complejos de unión intracelular, los cuales regulan la permeabilidad y la comunicación de las células entre sí y entre éstas y las capas más externas del vaso. La estructura y función de los complejos de unión es muy importante para entender algunos mecanismos básicos en relación con el tránsito de moléculas y de células sanguíneas de la luz arterial al espesor de la pared vascular.

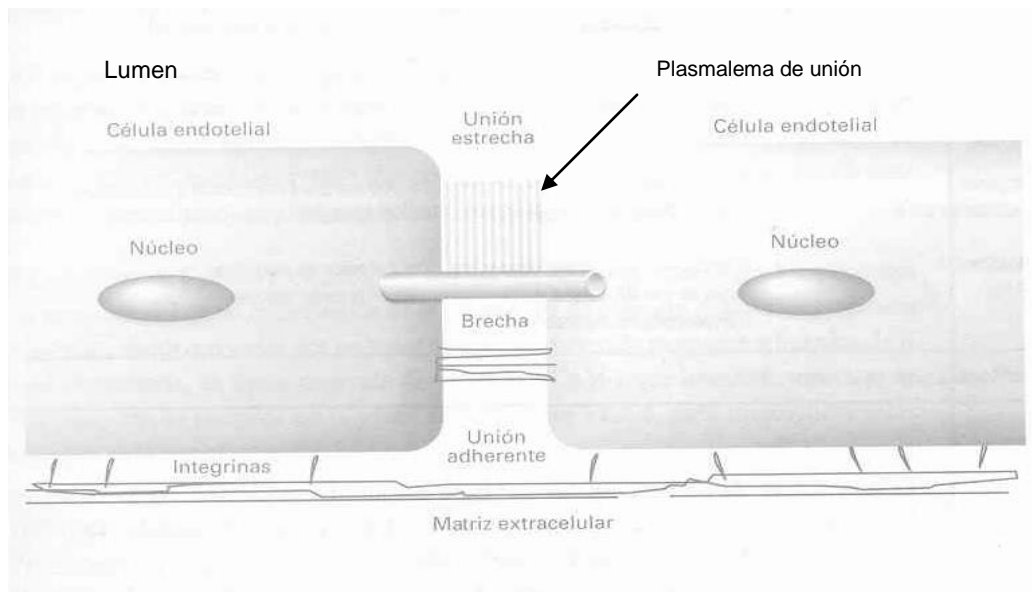
La capa subendotelial está formada por fibras elásticas y conectivas, en particular proteoglucanos, pero también de colágena y elastina, que sirve como cimiento a la capa endotelial, con la que se unen por medio de *moléculas de adhesión*. La región subendotelial es más evidente en los grandes vasos elásticos (como la aorta) y puede no existir en arterias de mediano y pequeño calibre. Esta capa delgada aumenta su grosor y su contenido de fibras conectivas al avanzar la edad.<sup>50,51</sup>

Maya Simionescu<sup>52</sup> establece que el endotelio es una monocapa celular que media las interacciones dinámicas y complejas entre la circulación y los diversos tejidos y órganos del cuerpo, con lo que subraya la función principal de éste tejido heterogéneo, cuyo peso total es de 3Kg y cuya estructura, fisiología y bioquímica son diferentes de un órgano a otro. De acuerdo con Simionescu,<sup>52</sup> las células endoteliales tienen un frente o cara *luminal*, bañada por la corriente sanguínea, y la capa *abluminal*, opuesta en relación con la lámina basal y el espacio subendotelial. Las células endoteliales están contenidas por la *membrana plasmalémica* o *plasmalema* que tiene diferentes funciones y características, según los dominios del interior de la célula que están relacionados con el lumen o el espacio subendotelial. La función del plasmalema luminal, en relación con la corriente sanguínea, son regular el funcionamiento y transmigración de los leucocitos y el flujo bidireccional de múltiples sustancias que se establecen entre las células endoteliales y la corriente sanguínea. El plasmalema está formado por dos capas: dos partes de glucocálix, la *lámina externa* y la *cubierta de superficie*, y la verdadera membrana celular o plasmalema. Ésta está compuesta por dos capas de lípidos, principalmente de fosfolípidos, los cuales están orientados de tal manera que sus porciones compuestas de fosfatos, de naturaleza hidrófila, están dispuestas hacia el exterior o al interior de la célula, y las porciones formadas por radicales de ácidos grasos, de naturaleza hidrófoba, están orientados hacia el centro de la membrana.<sup>50</sup>

Una de las características del endotelio sano es su impermeabilidad relativa tanto a las moléculas simples como complejas. Ésta función se debe a las firmes uniones entre células y células debido a los llamados complejos de

unión, que sellan prácticamente el espacio intercelular en ciertas áreas del plasmalema de unión. En la unión intercelular hay tres zonas diferentes, cuya naturaleza estructural depende de las proteínas que las forma. En la porción cercana al lumen vascular, se encuentra la *unión estrecha*; esta región es un área en donde las membranas celulares de las dos células contiguas se fusionan a tal punto que no permiten siquiera el paso de pequeñas moléculas.

La segunda zona recibe el nombre de *brecha de unión*, y está formada por proteínas tubulares que permiten la comunicación intercelular y el paso de señales eléctricas o sustancias químicas muy pequeñas, ya que los claros que forman tienen diámetro de alrededor de 20 Å. Finalmente, la *unión adherente*, a pesar de que mantiene muy cercana las superficies laterales de las células endoteliales, deja un espacio detectable de alrededor de 40 Å (Figura 3-4). Las uniones intercelulares del endotelio de las grandes arterias muestran los tres tipos de éstas en forma intercalada.<sup>50</sup>



**Figura 3-4.** Plasmalema lateral o de unión (modificado de Meaney E, 1999). Las uniones intercelulares del endotelio son estructuras complejas formadas por moléculas de adhesión ligadas a una trama de proteínas endocelulares que son parte del citoesqueleto celular. Este arreglo estructural permite la impermeabilidad relativa del endotelio, pero también tránsito controlado de intercambio entre la pared vascular y la luz arterial.

### **C.5.a. Papel del endotelio en funciones cardiovasculares.**

El endotelio tiene una localización anatómica estratégica en la pared vascular que le permite interactuar con las diferentes células que componen el entorno microvascular tanto físicamente como mediante diferentes mediadores hormonales y agentes vasoactivos.<sup>53</sup> La monocapa de células endoteliales (CE) que tapiza las paredes vasculares controla la comunicación entre la sangre y los vasos, ejerciendo un papel dual como sensor y transmisor de señales. El endotelio vascular no es simplemente una barrera que separa la sangre de la pared vascular, sino también un importante órgano que está implicado en numerosas actividades por su capacidad de modificar su funcionalidad. Las CE son capaces de detectar cambios tanto de tipo físico, relacionados con el estrés mecánico producido por el flujo sanguíneo, la presión arterial o la distensión de la pared, como de tipo químico, debidos a la liberación de sustancias por parte de las células sanguíneas o de los tejidos. Su capacidad de adaptarse funcionalmente a estos estímulos le confiere un papel clave en la regulación de la homeostasis vascular a la cual contribuye mediante la liberación de múltiples sustancias activas.<sup>54</sup> Así, participa en diversas funciones para mantener la fisiología cardiovascular, como las siguientes:

- La capacidad de expresar moléculas de adhesión que a su vez controlan el reclutamiento de leucocitos al subendotelio, donde serán activados participando en el proceso inflamatorio.<sup>53-55</sup>
- El mantenimiento del tono vascular y, por tanto, de la presión arterial, mediante la liberación de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras.<sup>56-58</sup>
- La creación de una superficie no trombogénica por la presencia de cargas eléctricas negativas y por la síntesis de inhibidores de la agregación plaquetaria.<sup>59-62</sup>
- La síntesis y liberación de sustancias reguladoras del crecimiento del fenotipo de la migración de las células musculares lisas.<sup>59-62</sup>

En estas funciones tienen un papel especialmente importante los factores sintetizados por el endotelio vascular. Así en el tono vascular participan vasodilatadores como la PGI<sub>2</sub>, el NO o el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (FHDE) especialmente importante en vasos pequeños, y también sustancias vasoconstrictoras como el tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>),<sup>53-55</sup> la endotelina-1 (ET-1) o radicales libres de oxígeno (ROS).<sup>57-58</sup> No hay que olvidar tampoco que una buena parte de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y la producción de angiotensina II está asociada a las membranas plasmáticas de las células endoteliales.

En la actividad antiagregante y antitrombogénica participan el NO y la PGI<sub>2</sub>, así como moléculas como el heparán sulfato, la proteína C y el factor activador del plasminógeno (t-PA). Con actividad opuesta se pueden citar al TXA<sub>2</sub>, factor Von Willebrand (FvW),<sup>56</sup> factor tisular (FT) y el inhibidor del activador de plasminógeno (PAI). La proliferación de las células de la pared, especialmente las Células del Músculo Liso Vascular (CMLV), está especialmente regulada de manera inhibitoria por el NO y la PGI<sub>2</sub> y activadora por la endotelina 1 y la angiotensina II.<sup>56-59</sup>

Por tanto, la fisiología vascular es dependiente de la integridad del endotelio porque mantiene un equilibrio entre la actividad biológica de sus factores y la de aquellos otros del mismo o distinto origen que la alteran. Entre las situaciones que más afectan a la estructura y actividad del endotelio, la aterosclerosis es, sin duda, la más importante.

Desde un punto de vista clínico, existe una gran diversidad de alternativas para determinar el diagnóstico de patologías relacionadas con enfermedades cardiovasculares, en donde se puede plantear y desarrollar un historial clínico que comprende aspectos fisiológicos, bioquímicos, ambientales, hereditarios, entre otros, para comprender y poder realizar un diagnóstico diferencial que pueda culminar en la mejor farmacoterapia del paciente para su pronta rehabilitación. Así, por ejemplo, la aterosclerosis de las arterias coronarias y cardiopatía isquémica que es la causa más común de muerte en Estados Unidos, ya que provoca alrededor de 600 000 muertes anualmente;

comprende, dentro de su perfil de historia clínica parámetros antropométricos y fisiológicos como: estatura, peso, índice de masa corporal, presión arterial, frecuencia cardiaca, entre otros; y estudios de laboratorio como: triglicéridos, colesterol total, HDLc, LDLc, Folato sérico y urinario, Homocisteína, B<sub>12</sub>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, glucosa, entre algunos más adicionalmente.

Por otro lado, para pacientes hipertensos ó sospechas de desarrollar hipertensión para su historia clínica se determina: estatura, peso, índice de masa corporal, dolor de cabeza, patrón de presión arterial; y de estudios de laboratorio, se determinan: arteriograma renal, placa de tórax, ultrasonido renal, urografía intravenosa, electrocardiograma, albúmina, prealbúmina, colesterol (proporción HDL:LDL), nitrógeno ureico, creatinina, glucosa, deshidrogenasa láctica, ácido úrico, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Cl<sup>-</sup>, entro muchas otras.

Como podemos ver, es muy importante contemplar y relacionar la fisiología con las alternativas que existen para el análisis y diagnóstico de patologías que tienen una mayor incidencia en la actualidad; ya que esto dará pauta para poder determinar la integridad del organismo, y así mantener un equilibrio entre la actividad biológica de sus factores que la originan de los que la alteran, para el bienestar del individuo; dando como resultado una farmacoterapia adecuada, recomendaciones nutricionales y educación del paciente, que influyen directamente en la salud del paciente.

Por lo anterior, muchos de las investigaciones y diagnósticos de enfermedades se sustentan la gran mayoría en pruebas adicionales que relacionan los cambios físicos, químicos, bioquímicos, estructurales, moleculares y fisiológicos para poder así, aparte de comprender a la misma enfermedad o alteración, proponer alternativas para mejorar la condición de los pacientes u objetos de estudio según sea el caso.

## **D. TÉCNICAS EMPLEADAS PARA EL ANÁLISIS DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS.**

### **D.1. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA, *in vitro*, DE: GLUCOSA.**

El objetivo de esta prueba es descubrir cualquier alteración en el metabolismo de la glucosa, principalmente diabetes, y se usa como auxiliar en el tratamiento de la diabetes. Ésta molécula es el glúcido de uso común en el organismo, el cual presenta concentraciones que como siempre, es el resultado de un equilibrio entre la entrada y la salida, la síntesis y el catabolismo de ésta molécula.<sup>63</sup> La prueba para azúcar en la sangre se utiliza para identificar alteraciones del metabolismo que resulta de alguna de diversas causas:

1. Incapacidad de las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos para producir insulina.
2. Número reducido de receptores insulínicos e incapacidad de los intestinos para absorber la glucosa.
3. Incapacidad del hígado para acumular y romper la molécula de glucógeno.
4. Cantidades aumentadas de hormonas.

Ésta determinación es un método enzimático donde se utiliza la glucosa oxidasa para catalizar la oxidación de glucosa ( $C_6O_6H_{12}$ ) a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y ácido glucónico.<sup>64</sup> El peróxido de hidrógeno que se forma es medido por la oxidación del cromógeno. El cromógeno formado no es cancerígeno, tóxico e inestable. Trinder y Emerson desarrollaron un sistema de fenolaminofenazona peroxidasa para medir peróxido de hidrógeno por formulación de un colorante rojo quinoneimina. Este método es poco influenciado por las interferencias de sustancias y el método que utilizamos se basa en el principio anterior pero utiliza un sustituto de fenol no corrosivo para añadir seguridad y conveniencia.<sup>65</sup>



### Glucosa oxidasa



### Peroxidasa



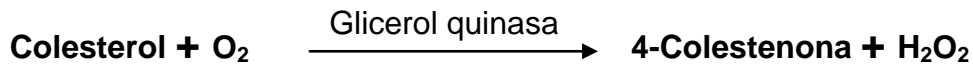
## D. 2. COLESTEROL

El colesterol es un compuesto de estructura esférica, esencial para el funcionamiento normal del organismo, con base a que realiza las siguientes funciones: es un componente estructural esencial de las membranas de las células animales y las partículas subcelulares, es precursor de los ácidos biliares, precursor de las hormonas esteroidales, como las hormonas sexuales y adrenales. En el caso del ser humano el colesterol puede ser obtenido por vía endógena (1g/día) y exógena (0.3g/día). La síntesis del colesterol ocurre principalmente a nivel hepático pero también se realiza en otros tejidos como la corteza suprarrenal, aorta, piel, intestino y testículos.

Los jugos biliares y pancreáticos son necesarios para la digestión y absorción del colesterol en el intestino. Los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), representan el colesterol obtenido en la dieta. Cerca de las  $\frac{3}{4}$  partes del colesterol sérico total es esterificado por el hígado y transportado en la sangre con las lipoproteínas de baja densidad (LDL), para su distribución sistémica. La determinación del colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. Estudios epidemiológicos demuestran que el aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular.<sup>66-67</sup>

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la siguiente reacción:





### D.3. TRIGLICÉRIDOS.

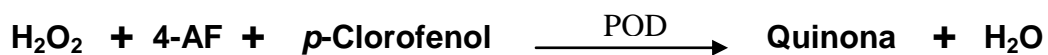
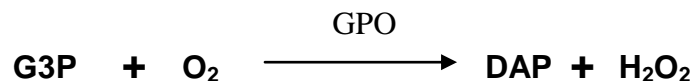
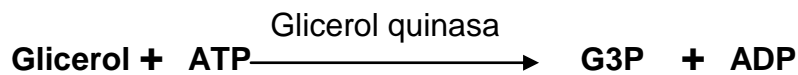
Los triglicéridos representan las principales grasas presentes en la naturaleza y su función primaria consiste en proporcionar energía a las células. Las células consumen ácidos grasos para transformarlos por combustión en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , un gramo de ácidos grasos libera aproximadamente 9 Kcal. El organismo humano almacena una gran cantidad de ácidos grasos en uniones ésteres con el glicerol en el tejido adiposo. Esta forma de almacenamiento de energía, es altamente eficaz debido a la magnitud del intercambio de energía que se produce cuando los ácidos grasos son catabolizados.<sup>24</sup>

Debido a su insolubilidad en agua, los triglicéridos son transportados en el plasma combinados con otros lípidos más polares (fosfolípidos) y proteínas, así como también con colesterol y en las macromoléculas lipoprotéicas complejas. La concentración de triglicéridos en el plasma en un momento dado representa un equilibrio entre la velocidad de ingreso al plasma y su velocidad de remoción. Durante el proceso de digestión que se lleva a cabo en el lumen intestinal, se hidrolizan los triglicéridos dando ácidos grasos libres y monoglicéridos; estos son absorbidos por las células intestinales y resintetizados en triglicéridos, los cuales son liberados en los linfáticos como lipoproteínas denominados quilomicrones.<sup>33</sup>

El hígado es el segundo sitio de liberación de triglicéridos hacia el plasma y ésta fuente depende del estado nutricional. Así, en el ayuno los ácidos grasos son movilizados desde los depósitos del tejido adiposo y transportados en el plasma en forma no esterificada, fijados a la albúmina plasmática. En su mayoría son transportados directamente a los tejidos como el músculo y utilizados como fuente primaria de energía. Otra cantidad de

triglicéridos ingresa al hígado donde una parte es oxidada, a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, o a cuerpos cetónicos, mientras que otra parte es reesterificada en el hígado y liberada nuevamente en el plasma como triglicéridos. Si el individuo ingiere una dieta pobre en grasas y rica en carbohidratos, parte de éstos últimos se convierte en ácidos grasos por el proceso de lipogénesis.<sup>33</sup>

En la determinación de triglicéridos, estos son incubados con lipoproteínas (LPL) liberando glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenado (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por GPO. Al final el peróxido de hidrogeno reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y *p*-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja.<sup>68,69</sup>



#### D. 4. UREA

Los aminoácidos y los nucleótidos de purina y de pirimidina son los compuestos de nitrógeno que constituyen los “ladrillos de construcción” de las grandes moléculas informativas: las proteínas y los ácidos nucleicos. La principal fuente de nitrógeno de los animales corresponde a las proteínas que consume en su dieta, aún cuando también pueda utilizar el amoníaco en la síntesis de sus compuestos que contienen nitrógeno. Las proteínas se hidrolizan enzimáticamente a aminoácidos en el tracto gastrointestinal; éstos se

absorben y pasan al torrente sanguíneo y llegan al hígado. Dicho órgano selecciona algunos aminoácidos para tareas biosintéticas específicas y permite que pase el resto a los tejidos extra hepáticos en donde pueden utilizarse en la síntesis de las proteínas. El hígado es, entonces, el sitio en que se efectúa la síntesis de varias proteínas sanguíneas (la albúmina del plasma, las globulinas, el fibrinógeno y la protrombina).<sup>70</sup>

Cuando están satisfechas las necesidades hepáticas de síntesis proteica, el hígado metaboliza cualquier aminoácido en exceso convirtiendo a los átomos de nitrógeno en urea y el esqueleto de carbono en los intermediarios del metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos. Así, la urea se forma en el hígado y constituye el principal producto final nitrogenado no proteico del catabolismo de las proteínas. La urea llega a los riñones a través del torrente sanguíneo para excretarla en la orina.

La prueba para determinar nitrógeno de urea sanguínea (BUN por sus siglas en inglés), se utiliza como un índice macroscópico de la función glomerular y de la producción y excreción de urea. El catabolismo rápido de las proteínas y un impedimento de la función renal provocaran una elevación de BUN. El grado al cual aumenta el BUN depende del grado de necrosis tisular, catabolismo proteínico y velocidad a la cual los riñones excretan el nitrógeno ureico. El BUN es menos sensible que las pruebas de eliminación de creatinina y puede ser anormal hasta que la eliminación de creatinina sea moderadamente anormal. Las cifras aumentadas de BUN están relacionadas con: función renal menoscabada, choque, deshidratación, hemorragia GI, infección, diabetes, infarto agudo de miocardio, gota crónica e ingestión excesiva de proteínas.<sup>70</sup>

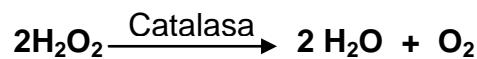
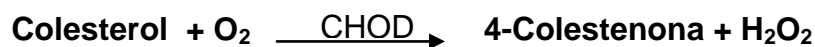
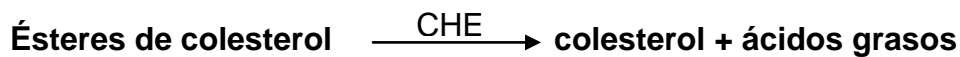
El ensayo de urea está basado en la reacción de la urea presente en la muestra con el o-ftalaldehido en medio ácido originando un complejo coloreado que puede cuantificarse espectrofotométricamente. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra analizada.<sup>71</sup>



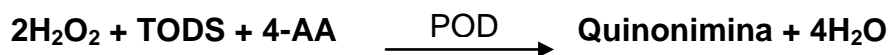
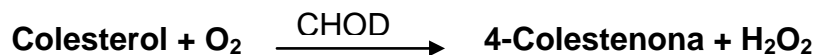
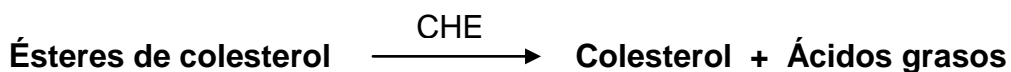
## D.5. COLESTEROL DE LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD (LDLc)

Las partículas de LDLc son lipoproteínas que transportan el colesterol a las células. Niveles elevados de colesterol LDL es un factor de riesgo de desarrollo en enfermedades cardiovasculares. Como el LDLc cumple la función de distribuir el colesterol, con la particularidad de que su baja densidad hace que se deposite con mucha facilidad en las capas medias e íntimas de las arterias, formando capas ateromatosas que estrechan la luz de las arterias. Niveles altos de colesterol LDL están relacionados con obesidad, diabetes y nefrosis.<sup>70, 72</sup> La determinación de LDLc se puede realizar sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra, y se realiza en dos pasos:

### 1. Eliminación de lipoproteínas no-LDL



### 2. Medición de LDLc



## **II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

Los cambios de la situación demográfica y epidemiológica observados en nuestro país durante los últimos 20 años muestran una prevalencia creciente de enfermedades crónicas no transmisibles en el adulto, donde los estilos de vida relacionados con la forma de comer y la nutrición constituyen uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de estas patologías. El sedentarismo y el estrés son cada vez más frecuentes en la población actual tanto para adultos como para niños, en donde los hábitos alimenticios no son balanceados y saludables como se recomiendan. En la elección de los alimentos se prefieren aquellos más ricos en calorías y grasas, especialmente grasas saturadas, azúcares refinados, aquellos con altos contenidos en sal y en menor grado aquellos ricos en fibra e hidratos de carbono complejos, por ejemplo, el almidón que se encuentra en el arroz, la avena, harinas integrales de centeno y trigo, entre otras. Todo esto, se ha traducido en un nuevo perfil epidemiológico, es decir, nos enfermamos y nos morimos por causas distintas que la generación de nuestros padres.

Hoy en día una ingesta alta en carbohidratos presenta, en diferentes estadios, alteraciones hemodinámicas en humanos, que se asocia con el desarrollo de la obesidad y ésta con un alto riesgo de complicaciones como diabetes, enfermedades cardiovasculares, enfermedades metabólicas, arterosclerosis, cáncer, etc. Esto ha despertado el interés de diversos grupos de investigación, pero los reportes son poco constantes y en algunos casos contradictorios. Por lo anterior expuesto, nuestro interés a nivel experimental, es el estudio comparativo de una ingesta alta de dos carbohidratos, azúcar y fructosa, para determinar la participación del tejido adiposo en las alteraciones del tono vascular de vasos de conductancia (aorta), diámetro de los adipocitos, microarquitectura vascular y además, evaluar los factores bioquímicos que participan en dichos cambios que se asocian con enfermedades crónico degenerativas.

### **III. HIPÓTESIS.**

De los carbohidratos con una alta ingesta en nuestra población está la Sacarosa y la fructosa que se encuentran en una gran variedad de alimentos (refrescos, pastelillos, caramelos, jugos con néctar de frutas, entre muchos otros). Dada la importancia de esta situación alimenticia que forma parte de factores de riesgo para muchas patologías como consecuencia de ingesta alta de dos carbohidratos: azúcar y fructosa; proponemos que el exceso de grasa subcutánea abdominal y perivascular modificará la reactividad vascular, la PAM, FC, la microarquitectura de corazón y/o vasos de conductancia, diámetro de los adipocitos y el perfil bioquímico de ratas hembra de la cepa Wistar, como resultado de las alteraciones ocasionadas en la estructura y en la función de los vasos sanguíneos.

#### **IV. OBJETIVO GENERAL.**

- Evaluar la participación de la grasa perivascular y subcutánea abdominal en la alteración de la reactividad vascular, y de factores que contribuyen a dichos cambios en ratas hembra de la cepa Wistar con una ingesta al 30% P/v de fructosa, 30% P/v de azúcar refinada y controles.

#### **V. OBJETIVOS PARTICULARES.**

- Evaluar las variaciones del perfil bioquímico (glucosa, colesterol, triglicéridos, urea, colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDLc)) después de una ingesta rica en fructosa ó azúcar refinado durante 10 semanas mediante la técnica de diagnóstico clínico *in vitro* comparados con sus controles.
- Evaluar la presión arterial media (PAM) y la frecuencia cardiaca (FC) de los grupos tratados y control mediante canulación de la arteria femoral.
- Evaluar la contracción con noradrenalina en una curva dosis-efecto, seguida de la relajación a la acetilcolina en anillos de aorta de las ratas tratadas y control, con y sin tejido adiposo perivascular.
- Estimar la modificación en el diámetro de los adipocitos de las ratas control, fructosa al 30% y Sacarosa al 30%, por medio de cortes histopatológicos.
- Determinar el deterioro de la microarquitectura vascular en aortas y/o corazones de ratas tratadas contar el control por medio de cortes histopatológicos



## VI. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPOS.

### A. Fármacos y reactivos.

Azúcar refinada comercial	
Fructosa refinada comercial	
Agua desionizada.	
Anhídrido carbónico	
Alcohol al 100, 96, 80,70 y 60%	SIGMA-ALDRICH
Baytril® (enrofloxacin), solución inyectable al 10%	BAYER
Bicarbonato de Sodio	J.T. Baker
Carbógeno (95 % O <sub>2</sub> y 5 % CO <sub>2</sub> )	PRAXAIR
Cloruro de Acetilcolina	SIGMA
Cloruro de calcio dihidratado	J.T. Baker
Cloruro de potasio	Merck
Cloruro de sodio	Merck
Cloruro de Magnesio heptahidratado	J.T.Baker
Eosina alcohólica	SIGMA-ALDRICH
Formol al 10%	SIGMA-ALDRICH
Gelatina bacteriológica	Bioxon de México
Gelatina glicerizada	Bioxon de México
Glucosa	J.T.Baker
Hematoxilina de Harris	SIGMA-ALDRICH
Heparina	SIGMA-ALDRICH
Ketamina (Ketalin), solución inyectable al	Probiomed
Mezcla Alcohol-Xilol 1:1	
Mezcla Alcohol-ácido 9:1	
Matacresa en aerosol	PFIZER
Noradrenalina	SIGMA
Parafina refinada especial para histología.	
Resina sintética	PISA
Reactivo para determinación cuantitativa "in Vitro" de:	
a) Glucosa	AccuLine plus®
b) Colesterol	SPINREACT®

c) Urea	SPINREACT®
d) Triglicéridos	SPINREACT®
e) LDLc	SPINREACT®
Rojo Sudan	SIGMA-ALDRICH
Xilacina (Procin Equus), solución inyectable al 10%	PISA
Xilol grado reactivo.	SIGMA-ALDRICH

## B. Equipo.

Analizador automatizado de pruebas de laboratorio MERCK *MICROLAB-100*.

Balanza Analítica SARTORIUS® *TE2101*.

Baño maría POLYSTAT®.

Deshidratador automático HISTOKINETTE WAS BATH® *Mod. E7606*.

Equipo para órgano aislado Polígrafo GRASS® *Mod. 7D*.

Estufa MAPSA ® *Mod. HDP 334*.

Micropipetas GILSON® capacidades de 2-20 µL , 50-200 µL y 200-1000 µL.

Microcentrífuga SPROUT®.

Microscopio óptico.

Microtomo para cortes por congelación LEICZ®.

Microtomo de cortes por parafina LEICZ®.

Tacógrafo GRASS® *Mod. 794*

## C. Material.

Cánula modelo PE-50

Eppendorf de 1.5mL.

Estuche de disección.

Equipamiento habitual de laboratorio (guantes, puntas de pipetas, gasas).

Matraz aforado de 1000 y 2000mL

Frascos ámbar de 25mL.

Porta y cubre objetos.

Probetas graduadas de 200, 500 y 1000mL.

Vasos de precipitados de 25, 50, 100 y 500mL.

Jeringas desechables de plástico de 1, 3, 5 y 10mL.

## **VII. METODOLOGÍA.**

### **A. Población.**

Ratas de la cepa Wistar hembras de 12 a 14 semanas de edad, de entre 200 a 250g de peso, las cuales se mantienen en un bioterio con jaulas especiales, bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, bajo ciclos de luz-oscuridad (12/12 hrs.), recibiendo alimento estándar *LabDiet® 5008* y de beber, agua común, disoluciones de agua-fructosa ó azúcar refinado al 30%  $\text{p/v}$  *ad limitum* correspondiente a cada grupo (control y tratados respectivamente).

### **B. Alimento estándar *LabDiet® 5008*.**

Los animales contaron con alimento estándar en todo momento con un suministro abundante de agua ó tratamiento.

Tabla nutricional

Proteína cruda, mínimo	23.0%
Grasa cruda, mínimo	6.5%
Fibra cruda, máximo	4.0%
Cenizas, máximo	8.0%
Minerales agregados, máximo	2.5%

### **C. Anestesia.**

Los animales fueron anestesiados con una combinación de Ketamina (50mg/kg) y Xilazina (10 mg/kg) por vía i.m. La mezcla de estos dos agentes inductores de anestesia deberán ser utilizados máximo 2 días después de su preparación, más de este tiempo se presenta oxidación de los compuestos.

#### **D. Método general de colección y conservación de la muestra.**

La muestra de sangre para la determinación de glucosa se extrajo por decapitación en tubos eppendorf de ratas de la cepa Wistar, adultas, hembra, de diez a doce semanas de tratamientos correspondientes a cada grupo (A: control, B: azúcar comercial al 30% y C: fructosa al 30%); se separó el suero por centrifugación durante 5 minutos a 3000rpm, en una centrífuga para eppendorf marca SPROUT®; posteriormente se almacenó a una temperatura de 2-8 °C para su posterior análisis (se realizó antes de un tiempo límite de 24 horas debido a la degradación de los parámetro bioquímicos a este máximo de tiempo). Para todas las determinaciones se rotularon perfectamente con un plumón indeleble los tubos de prueba, tanto para controles, estándar y muestra desconocida.

#### **E. Determinación cuantitativa de parámetros bioquímicos *in vitro*.**

##### **E.1. GLUCOSA.**

Después de haber obtenido la muestra para realizar el análisis de glucosa (ver método general de colección y almacenamiento de la muestra), se adicionó por medio de una micropipeta P-1000, 1000 µL de reactivo Glucosa oxidasa/Trinder (líquido) marca *AccuLine plus*® (compuesto de: Glucosa Oxidasa >15u/mL, Peroxidasa de rábano >1.0u/mL, 4-Aminoantipirina 0.38mM, Buffer de fosfatos *p*-Hidroxibenzoato de sodio 5mM, estabilizadores y otros compuestos no reactivos pH 7.4±0.2 a 25 °C) en cada tubo de prueba, se encuba a 37° C durante 10 minutos en una baño maría.

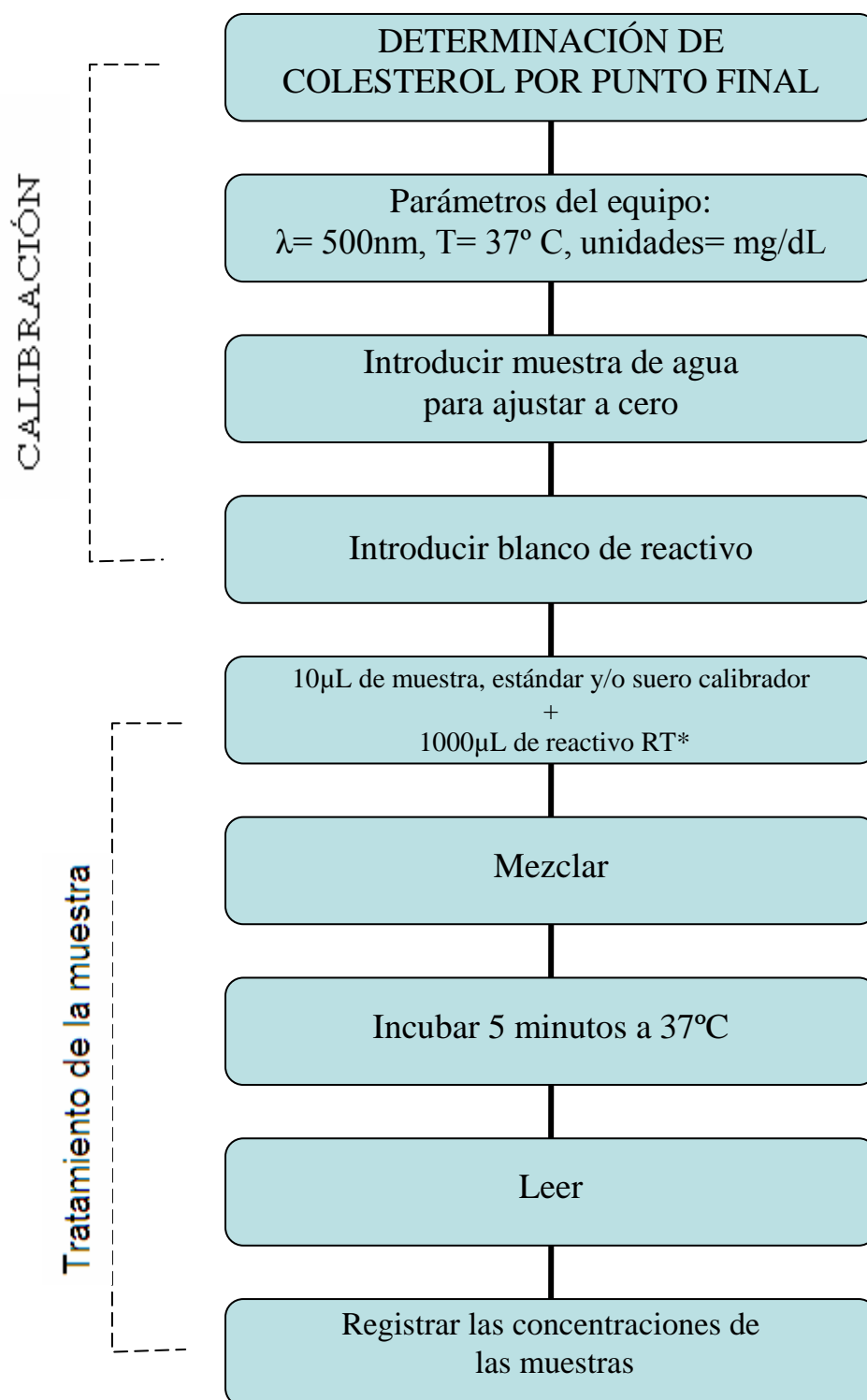
Posteriormente se agrega 10 µL con una pipeta P-20, de estándar (100mg/dL), muestra y/o suero control a su correspondiente tubo de prueba. Mezclar mientras se mantiene constante la temperatura e incubar todos los tubos a 37°C durante 10 minutos. Después se determinan los parámetros del analizador de química clínica automatizado, a una temperatura de 37°C, con

longitud de onda ( $\lambda$ ) cercana a 500nm y tipo de ensayo de punto final, con un volumen de aspirado de 500  $\mu$ L, las unidades en mg/dL, estándar de 100 mg/dL y finalmente el intervalo de concentración estimados como normales para la prueba. Finalmente se precede a leer y registrar las concentraciones de los tubos de prueba conforme lo marca el aparato (muestra de agua, blanco de reactivos, estándar y muestra a determinar).

Observaciones generales de uso:

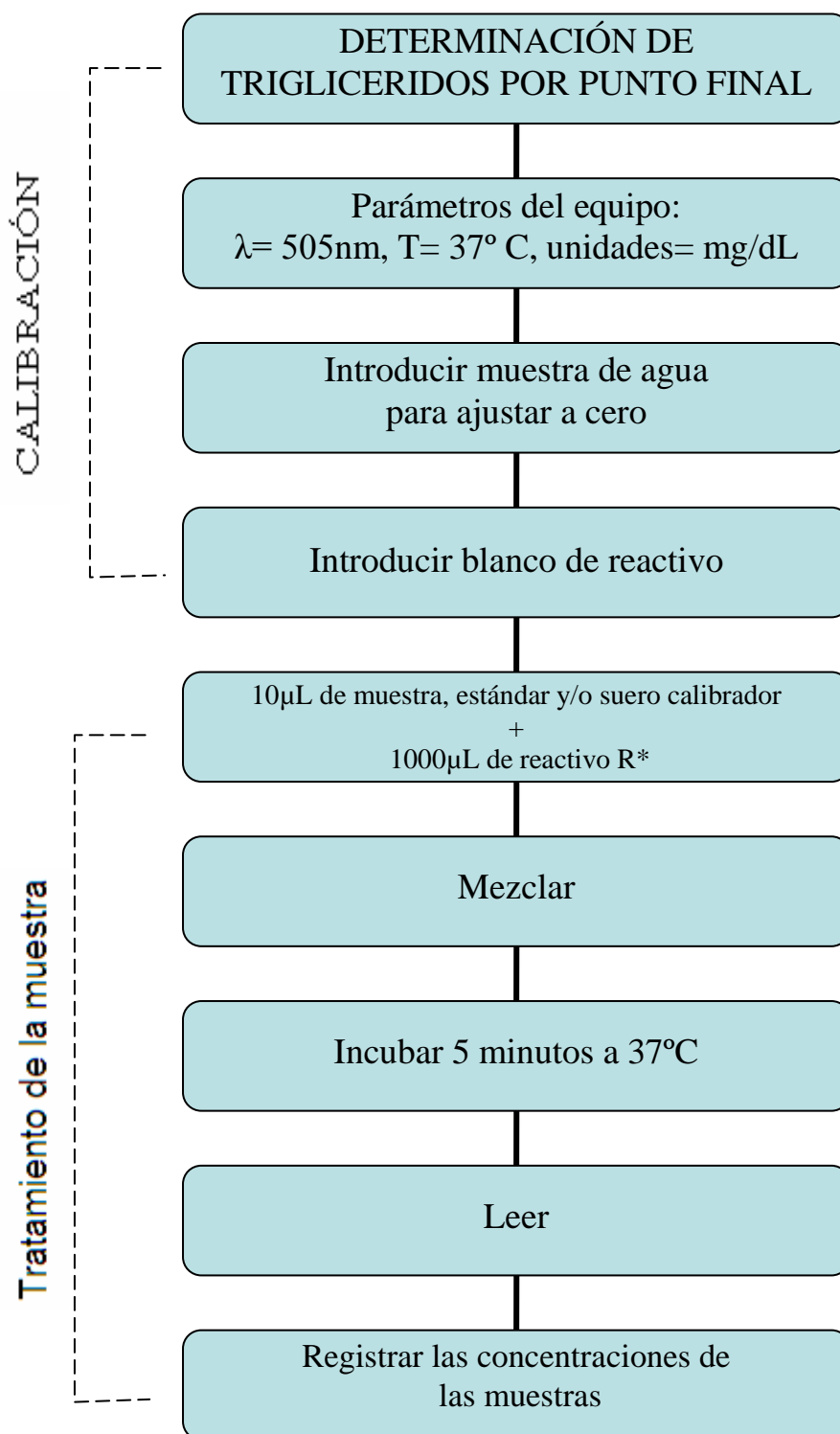
- a) Después de calibrar el aparato con el estándar se puede determinar “n” cantidades de muestras hasta que el equipo lo vuelva a requerir.
- b) La integridad de la reacción debe ser valorada con el uso de dos niveles de control con valores conocidos de la prueba a realizar.
- c) Este ensayo requiere el uso de un suero calibrador o estándar apropiado.
- d) Este reactivo es sólo para uso de diagnóstico “*in vitro*”.
- e) Para el reactivo de glucosa evite verter a la tarja, ya que contiene azida de sodio en 0.02% lo cual puede reaccionar con cobre o tuberías de plomo.
- f) No utilice el reactivo si desarrolla turbidez, crecimiento microbiano o falla en recuperar los valores de control conocido.
- g) La glucosa se oxida aproximadamente 7% por hora en sangre completa, por eso es recomendable analizarla antes de las 24hrs después de su obtención.
- h) Evite ingerir el reactivo. Irrita la piel. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con abundante agua.

## E.2. COLESTEROL.



\* **Reactivo RT:** Disolver reactivo R<sub>1</sub> (compuesto de PIPES pH 6.9, 90mmol/L y Fenol 26mmol/L) y reactivo R<sub>2</sub> (compuesto de Colesterol esterasa 300U/L, Colesterol oxidasa 300U/L, Peroxidasa 1500U/L, 4- Aminofenazona 0.4 mmol/L).

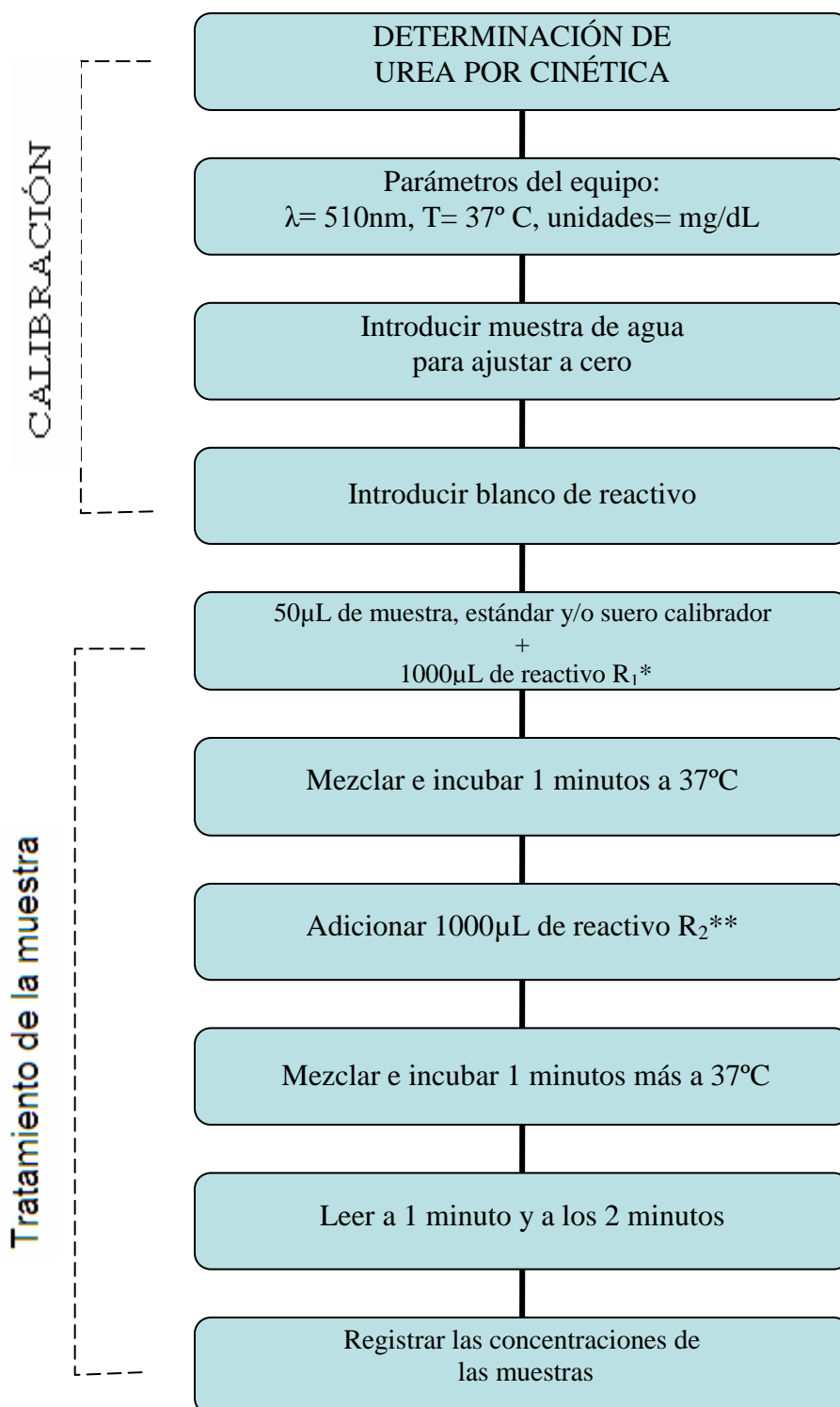
### E.3. TRIGLICÉRIDOS.



\* **Reactivo R:** Compuesto de GOOD pH 7.5 50mM/L, *p*-Clorofenol 2 mM/L, LPL 150000U/L, GK 500U/L, GPO 3500U/L, 4-AF 0.1 mM/L y ATP 0.1 mM/L.



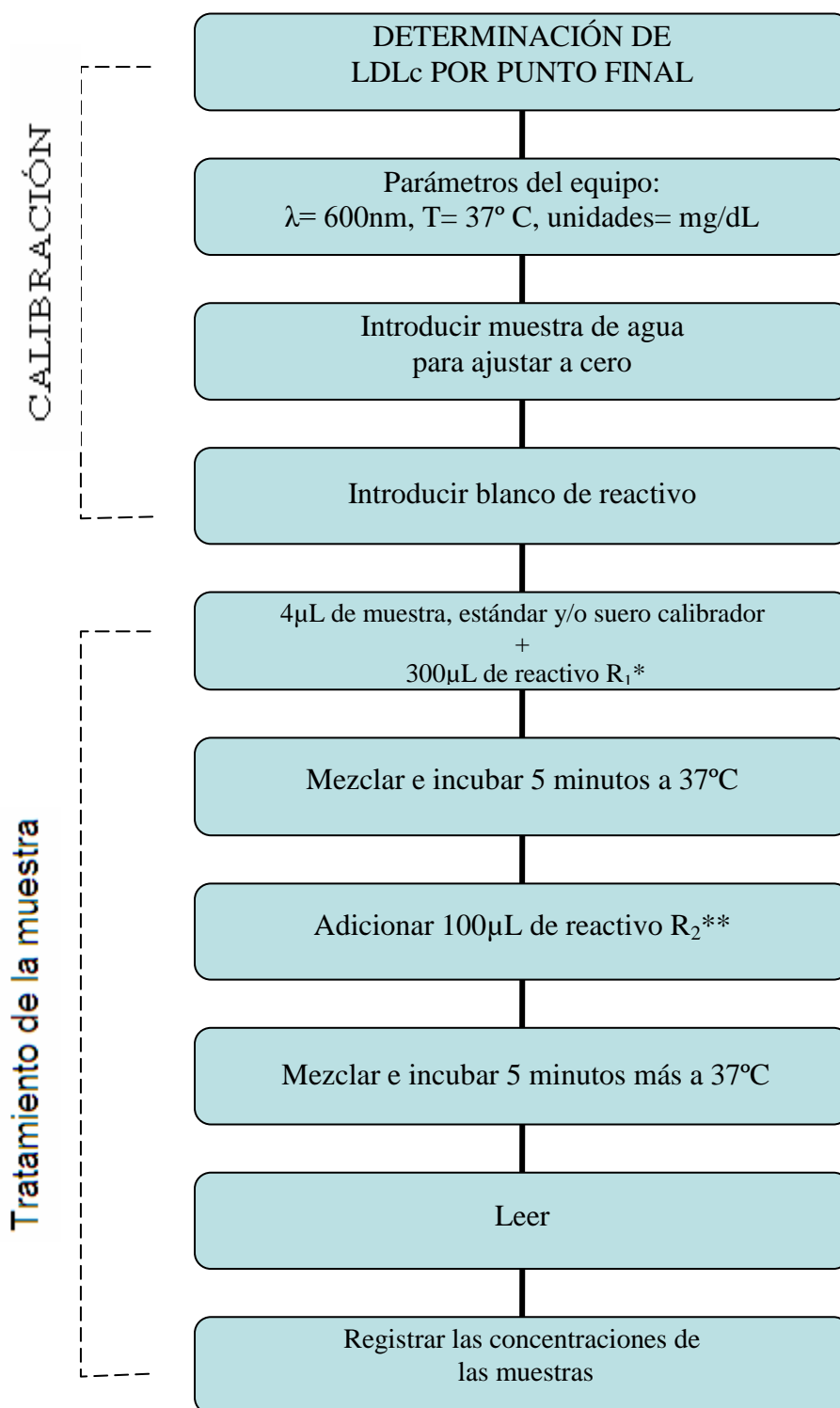
#### E.4. UREA.



\* **Reactivo  $R_1$ :** Compuesto de *o*-ftalaldehido 4,8mmol/L.

\*\* **Reactivo  $R_2$ :** Compuesto de solución de boratos 87mmol/L.

## E.5. LDLc.



\* **Reactivo  $R_1$ :** Compuesto de GOOD pH 7.0 50mmol/L, colesterol esterasa 380U/L, Colesterol oxidasa 380U/L, Catalasa 400U/mL, N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina 0.45 mmol/L.

\*\* **Reactivo  $R_2$ :** Compuesto de GOOD pH 7.0 50mmol/L, 4-Aminoantipirina (4-AA) 1.00mmol/L, Peroxidasa (POD) 1000U/L.

## **F. Registro de la presión arterial media y la frecuencia cardiaca en ratas anestesiadas.**

Después de haber cumplido con el tiempo estimado del tratamiento de cada grupo de ratas, se anestesiaron con una mezcla de fármacos de Ketamina (50mg/kg) y Xilazina (10 mg/kg) por vía i.m; posteriormente se realizó una cirugía en la zona interior de la pierna de la rata, para poder aislar a la arteria femoral; después, se realizó una incisión para canular a la altura de la ramificación arterial femoral (arteria femoral profunda y arteria femoral externa). Se introdujo una cánula PE-50 con solución salina isotónica heparinizada (0.5UI/mL). La cánula fue conectada a un transductor de presión P23 acoplado a un polígrafo Grass, modelo 7D (Grass Instrument Co. Quince, Mass, USA) para obtener un registro de la PAM; el cual permitió a su vez la captura y registro de la FC pero con un cardiotacógrafo activado por onda de presión (modelo 7P4F, Grass instrument Co. Quince, Mass, USA). Los resultados fueron expresados en mmHg.

## **G. Preparaciones *in vitro* de órgano aislado de anillos aórticos.**

Los estudios de reactividad vascular se realizaron en anillos de aorta de ratas de los diferentes grupos experimentales. Los animales fueron sacrificados por decapitación. A continuación se extrajo la aorta desde la parte torácica hasta la lumbar y colocada en solución de Krebs compuesta de: (en mM) NaCl 122, Glucosa 11, NaHCO<sub>3</sub> 15, KCl 5.9, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1.25, MgCl<sub>2</sub> 1.25, a 37°C y oxigenada por un flujo continuo de carbógeno (mezcla de 95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>). Con la finalidad de evaluar la participación del tejido adiposo perivascular en la respuesta vascular los anillos se dividieron en dos secciones: la primera se le limpió de tejido perivascular (tejido adiposo y tejido conectivo) y la segunda sección conservó éste tejido. La aorta fue cortada aproximadamente en anillos de 2 a 3mm de longitud.

Cada anillo se suspendió entre dos ganchos de nicrom y se colocó dentro de una cámara para órgano aislado que contenían 10 ml de disolución

de Krebs a 37°C, pH 7.4 y con un burbujeo constante de carbógeno. Los anillos con y sin tejido adiposo perivascular se fijaron por un extremo al fondo de la cámara y por el otro a un transductor de tensión Grass FT03C, que se acopló a un polígrafo de la misma marca, permitiendo el registro isométrico de la fuerza de contracción.

Posteriormente bajo una tensión inicial de 2g y previo período de estabilización, se indujo una pre-estímulo con Noradrenalina ( $10^{-6}$  M), una vez alcanzada la fase de meseta se administrará acetilcolina ( $10^{-6}$  M) para relajar hasta que alcance su relajación máxima, después se procedió al lavado (hasta estabilizar la línea basal) y finalmente la preparación se sometió a una curva de contracción dosis-respuesta de noradrenalina con concentraciones crecientes de  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$  M con  $\frac{1}{2}$  lóg., seguidas de una curva de relajación a la acetilcolina de  $10^{-9}$  a  $10^{-5}$  M con  $\frac{1}{2}$  lóg.

## **H. Técnicas histológicas.**

### **H.1. AORTAS Y CORAZONES.**

Ésta técnica se desarrolló en el laboratorio de histología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Campo I (L-211), bajo la tutoría del **TH. Angel Tovar Luna**. En donde las muestras extraídas de los distintos grupos experimentales se sometieron a un conjunto de operaciones destinadas para demostrar la disposición estructural de los tejidos involucrados.

Para poder procesar las muestras de aortas y corazones extraídas de los animales de experimentación, se seleccionó de manera aleatoria para obtener muestras representativas de cada uno de los grupos. La técnica realizada fue Hematoxilina-Eosina (H-E), para la cual, las muestras se tuvieron que fijar en formol al 10% para ser sometieron posteriormente a una deshidratación automática por medio de un aparato llamado HISTOKINETTE

(WAS BATH® Mod. E7606), el cual consta de 12 pasos de una hora cada uno y son:

1. Alcohol al 60%.
2. Alcohol al 70%.
3. Alcohol al 80%.
4. Alcohol al 96%.
5. Alcohol al 96%
6. Alcohol al 100%.
7. Alcohol al 100%.
8. Alcohol al 100%.
9. Alcohol-Xilol 1:1 al 100%.
10. Xilol al 100%.
11. Parafina a 56-58°C.
12. Parafina a 56-58°C.

Posteriormente se realizó la inclusión en parafina, que consiste en hacer penetrar un líquido solidificable que tenga la consistencia del tejido; en este caso sería la parafina refinada especial para histología a un punto de fusión de 56-58°C, en donde se colocó la muestra de tal forma que los cortes salieran transversalmente en un contenedor, donde posteriormente se llenó con parafina líquida y poder así sacar bloques que se colocarían en el microtomo. La técnica empleada para obtener el tejido que se montará y fijará más adelante fue la de *cortes por parafina* en un microtomo (LEICZ®), que consistió en hacer rebanadas en serie de un grosor de 5-6 micras, las cuales se recogieron en portaobjetos de un baño a una temperatura de 56°C con gelatina bacteriológica marca Bioxon® previamente disuelta en el agua (1g/L). Las laminillas se colocaron en canastillas metálicas y se colocaron en una estufa (MAPSA® Mod. HDP 334) previamente calentada a una temperatura de 56-58°C para desparafinar. Posteriormente, las preparaciones se sometieron al desparafinado que es como sigue:

1. 2 Xiloles 5min <sup>c</sup>/<sub>u</sub>.
2. Alcohol al 100%.
3. Alcohol al 100%.
4. Alcohol al 96%.
5. Alcohol al 96%.
6. Alcohol al 80%.
7. Alcohol al 60%.
8. Agua común.

Los cortes se pasaron a teñir después de estos pasos a teñir en un tren de tinciones con la técnica H-E (Hematoxilina de Harris y Eosina alcohólica) de la siguiente manera:

1. Hematoxilina de Harris de 6-10 minutos (tiñe núcleos).
2. Lavar con agua común durante 3 minutos, cambiando el agua.
3. Decolorar con alcohol-ácido de manera rápida (quita exceso de colorante)
4. Lavar con agua común hasta que los cortes viren a azul.
5. Eosina alcohólica durante 3 minutos (tiñe el resto del tejido).
6. Alcohol al 80%.
7. Alcohol al 96%.
8. Alcohol al 100%.
9. Alcohol al 100%.
10. Alcohol-Xilol 1:1 al 100%.
11. Xilol al 100% (aclarante).

Finalmente las preparaciones se montan en resina sintética para observar al microscopio.

## **H.2. GRASA (ADIPOCITOS).**

Esta técnica se desarrolló en el departamento de patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la tutoría del **PhD. MC. MVZ. Laura P. Romero Romero, MC. MVZ. Gerardo Salas Garrido y PMVZ. Oralia Medina Rodríguez**, jefe del departamento, profesor asociado y ayudante de profesor del departamento de patología respectivamente. En donde las muestras extraídas de los distintos grupos experimentales se sometieron a un conjunto de operaciones destinadas para demostrar la disposición estructural de los adipocitos.

Para poder procesar las muestras de grasa perivascular y subcutánea abdominal se tuvieron que fijar en formol al 10% y hacer una selección de manera aleatoria de cada grupo. Posteriormente para poderlas cortar, se lavó con abundante agua para quitar el exceso de fijador. Luego se colocó una pequeña porción de tejido graso de 0.5-1cm, en la platina del microtomo de

congelación, sobre un trozo de papel filtro humedecido. Se enfrió suficientemente con anhídrido carbónico, de manera que el tejido quedó congelado hasta la parte superior (esto se hace abriendo a intervalos breves la llave de salida del gas).

Con éste paso, la muestra adquiere suficiente dureza para poder ser cortada; Los cortes se realizaron por la técnica de *cortes por congelación* en un microtomo (LEICZ®), el grosor de los cortes fueron de 9-10 micras, las cuales se recogieron con un pincel y se colocan en un baño con agua destilada y gelatina bacteriológica marca Bioxon® previamente disuelta (1g/L), donde se extienden y se colectan en portaobjetos para ser teñidas.

Después de que las colectamos en los portaobjetos, se pasó por un tren de tinciones que es como sigue:

1. Teñir con hematoxilina de Harris, durante 15 minutos.
2. Lavar con abundante agua destilada.
3. Lavar con agua común hasta que los cortes viren a azul.
4. Lavar con agua destilada, por 5 minutos.
5. Sumergir los cortes en Sudán IV durante 5 minutos.
6. Lavar con agua destilada.
7. Cubrir con gelatina glicerizada

Finalmente las preparaciones se montaron en fijaciones semipermanentes para observarse al microscopio.

### **Análisis estadístico de los datos.**

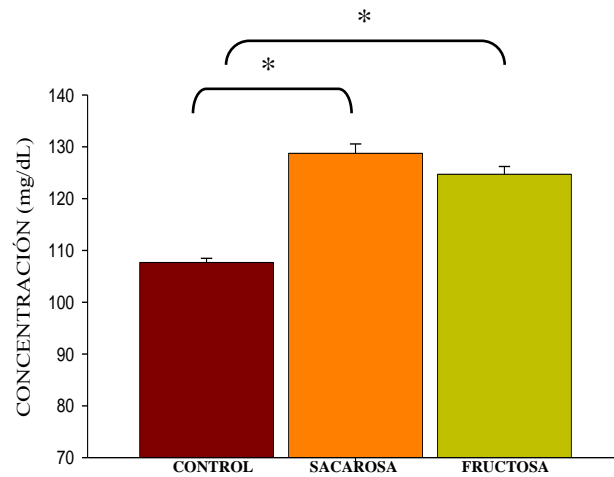
El análisis estadístico de los datos se realizó con una ANOVA de 1 vía seguida de una prueba de Tukey (cuando se compararon todos contra todos). Las diferencias entre las medias fueron consideradas estadísticamente significativas con un valor de  $p \leq 0.05$ .

## **VIII. RESULTADOS.**

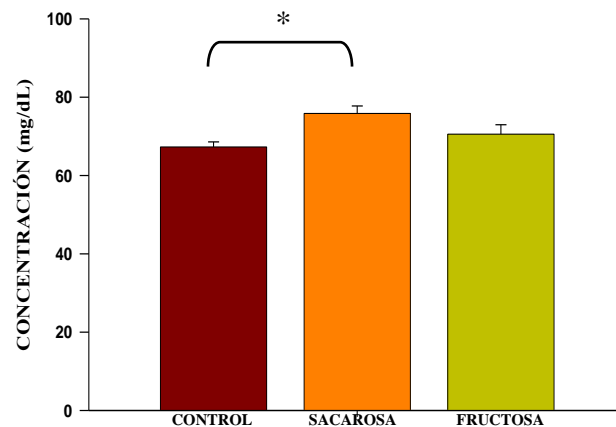
### **A. Análisis del efecto producido en parámetros bioquímicos por una ingesta alta en carbohidratos.**

Después de diez a doce semanas de tratamiento a los diferentes grupos experimentales (Control (C), Azúcar comercial al 30% (se utiliza la palabra Sacarosa (Sa.) como sinónimo de azúcar comercial) y fructosa al 30% (Fr), se valoraron cinco parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, urea, LDLc); en donde la glucosa presentó diferencia significativa mayor ( $p \leq 0.05$ ) para los grupos Sa y Fr con relación a el grupo C, pero no así entre los grupo Sa. y Fr (Figura 7-1). Para la determinación de colesterol el análisis estadístico mostró una diferencia significativa mayor ( $p \leq 0.05$ ) para el grupo Sa con respecto al grupo C, pero no entre C vs. Fr y Sa vs. Fr (Figura 7-2). En la determinación de triglicéridos presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) los tres grupos experimentales, mayor para Sa con relación a C y menor para Fr con respecto a éste (Figura 7-3). Para la determinación de urea no existieron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los diferentes grupos experimentales (Figura 7-4). Y finalmente para la determinación de LDLc no se presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) de los diferentes grupos experimentales (Figura 7-5).

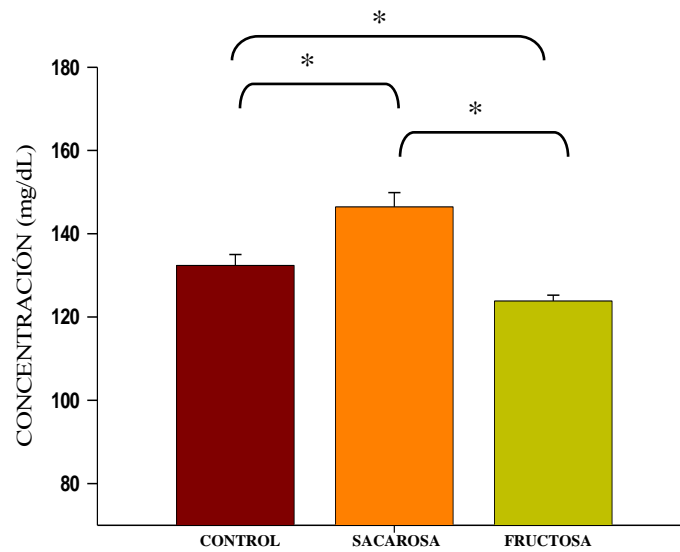




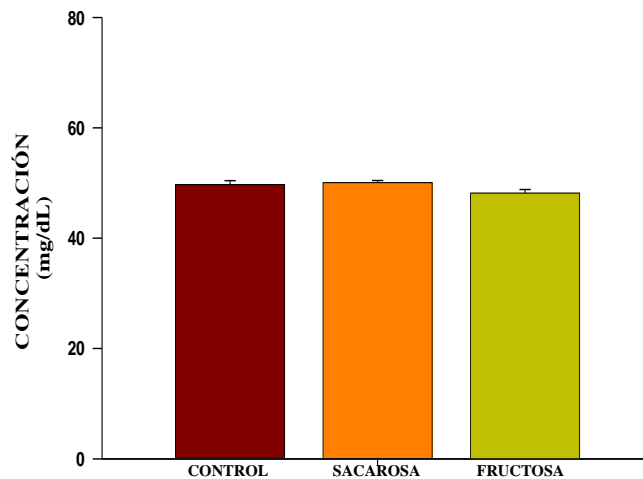
**Figura 7-1.** Determinación de la concentración de **glucosa** plasmática (mg/dL). Animales con tratamiento experimental de 10 a 12 semanas: Control (■), Sacarosa al 30% (■), y fructosa al 30% (■). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. n=6 por tetraplicado; ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$ .



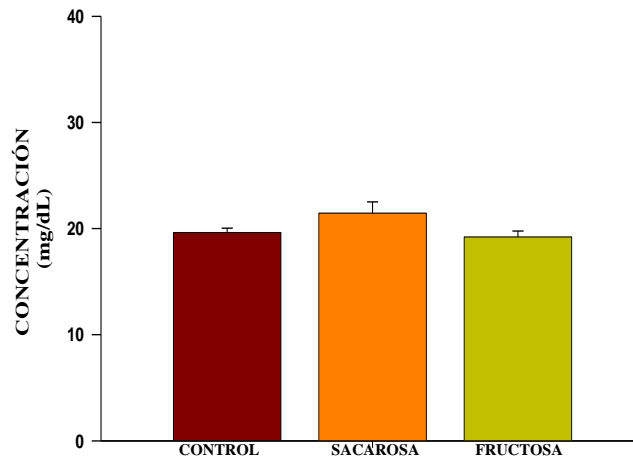
**Figura 7-2.** Determinación de la concentración de **colesterol** plasmático (mg/dL). Animales con tratamiento experimental de 10 a 12 semanas: Control (■), Sacarosa al 30% (■), y fructosa al 30% (■). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. n=6 por tetraplicado; ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$ .



**Figura 7-3.** Determinación de la concentración de **triglicéridos** plasmáticos (mg/dL). Animales con tratamiento experimental de 10 a 12 semanas: Control (■), Sacarosa al 30% (■), y fructosa al 30% (■). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. n=6 por tetraplicado; ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$ .



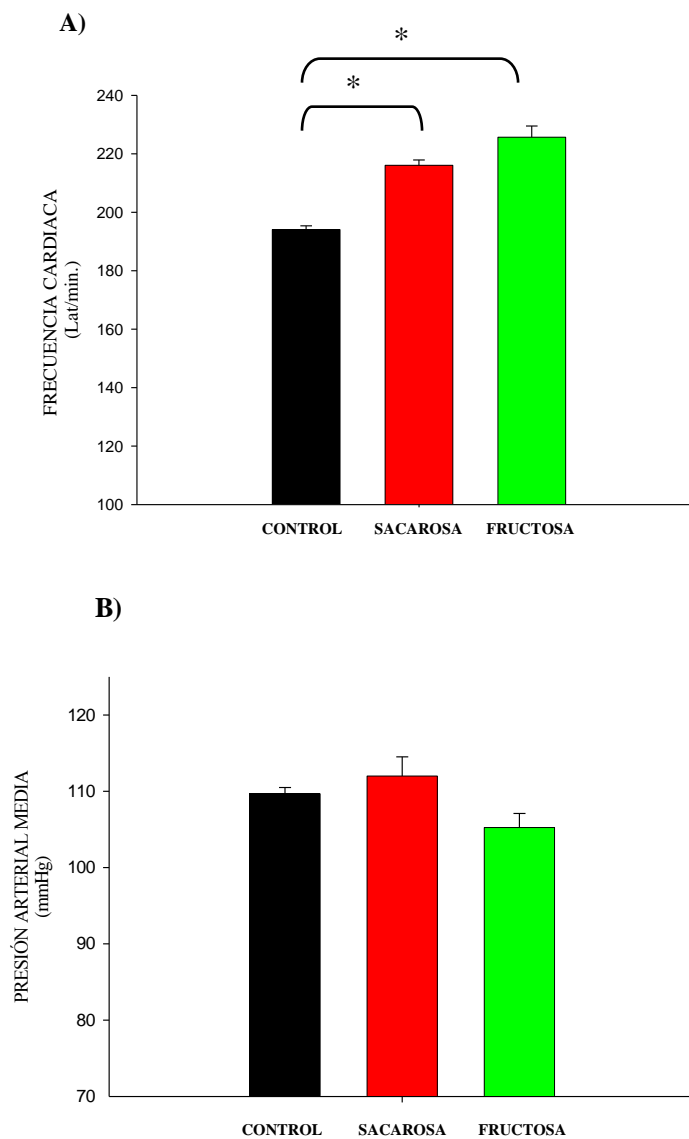
**Figura 7-4.** Determinación de la concentración de **urea** plasmática (mg/dL). Animales con tratamiento experimental de 10 a 12 semanas: Control (■), Sacarosa al 30% (■), y fructosa al 30% (■). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. n=6 por tetraplicado; ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$ .



**Figura 7-5.** Determinación de la concentración de **LDLc** plasmática (mg/dL). Animales con tratamiento experimental de 10 a 12 semanas: Control (■), Sacarosa al 30% (■), y fructosa al 30% (■). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. n=6 por tetraplicado; ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$ .

## B. Efecto del tratamiento alto en carbohidratos sobre la la FC y PAM en ratas anestesiadas.

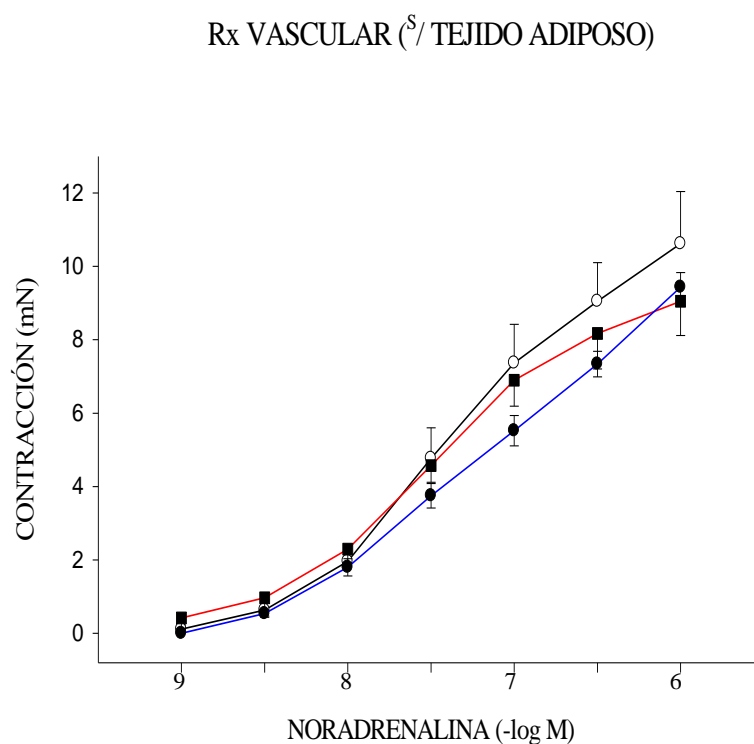
Los resultados obtenidos para la frecuencia cardiaca en los tres grupos experimentales nos permiten observar que los grupos de Sa y Fr presentan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) al compararse con el grupo C; por el contrario, el grupo Sa vs. Fr no mostraron diferencias significativas (Figura 7-6A). Para la presión arterial media (PAM) los grupos control, azúcar comercial al 30% (Sacarosa) y fructosa al 30% no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 7-6.** Efecto del consumo alto de carbohidratos sobre: A) frecuencia cardiaca (Lat/min.) y B) Presión arterial media (mmHg). Control (■), Sacarosa al 30% (■), y fructosa al 30% (■). Las barras representan la media  $\pm$  error estándar; n=6. ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$ .

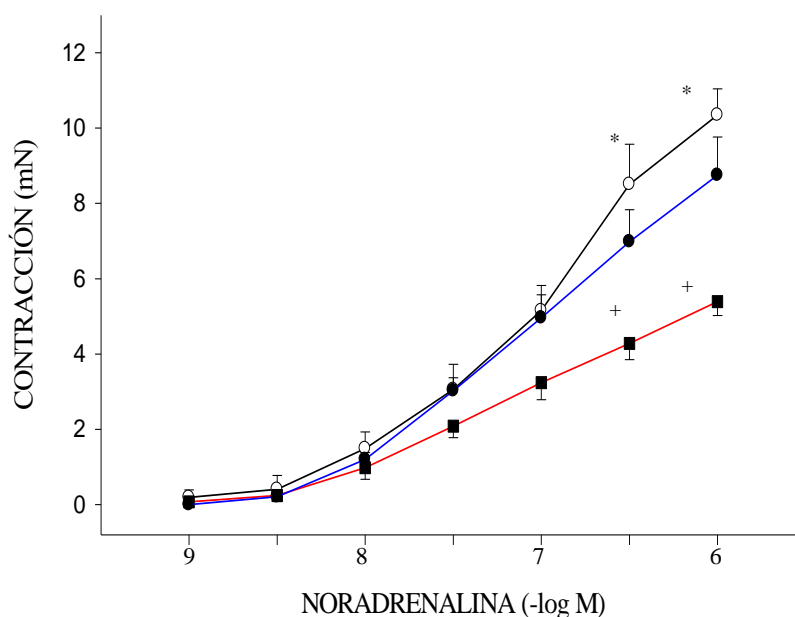
### C. Reactividad vascular en anillos aórticos con y sin tejido adiposo perivascular de ratas control, fructosa al 30% y Sacarosa al 30%.

El estudio de la respuesta contráctil (curva concentración-respuesta) en anillos de aortas de los diferentes grupos experimentales (Control (C), Sacarosa al 30% (Sa) y fructosa al 30% (Fr)) mostraron, que para anillos sin tejido adiposo perivascular, la contracción no presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos (Figura 7-7); sin embargo, para anillos con tejido adiposo perivascular sobre ésta respuesta, el efecto producido por las Sacarosa fue significativamente ( $p \leq 0.05$ ) menor, con respecto a el grupo C y de Fr (Figura 7-8) en las últimas concentraciones de administración de noradrenalina; pero no así entre el grupo C y el grupo de Fr.



**Figura 7-7.** Curvas concentración-respuesta a noradrenalina en anillos de aorta sin tejido adiposo perivascular. Se observa el efecto de los diferentes tratamientos experimentales (Control (O, C-SG), Sacarosa al 30% (■, Sa-SG), y fructosa al 30% (●, Fr-SG)) sobre la respuesta contráctil a 10 semanas de tratamiento. ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$  C-SG vs. Sa-SG, #  $p \leq 0.05$  C-SG vs. Fr-SG, + Sa-SG vs. Fr-SG.

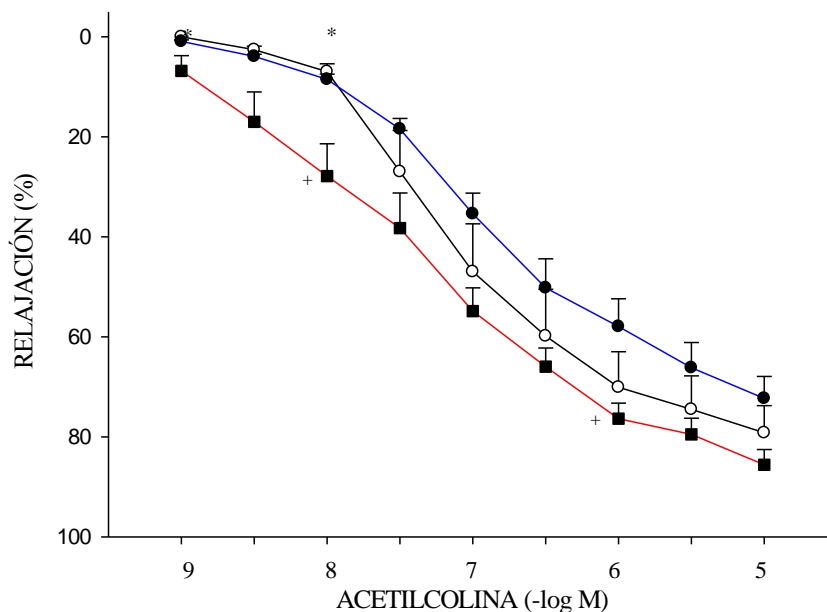
## Rx VASCULAR (C/ TEJIDO ADIPOSO)



**Figura 7-8.** Curvas concentración-respuesta a noradrenalina en anillos de aorta con tejido adiposo perivascular. Se observa el efecto de los diferentes tratamientos experimentales (Control (O, C-CG), Sacarosa al 30% (■, Sa-CG), y fructosa al 30% (●, Fr-CG)) sobre la respuesta contráctil a 10 semanas de tratamiento. ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$  C-CG vs. Sa-CG, #  $p \leq 0.05$  C-CG vs. Fr-CG, + Sa-CG vs. Fr-CG.

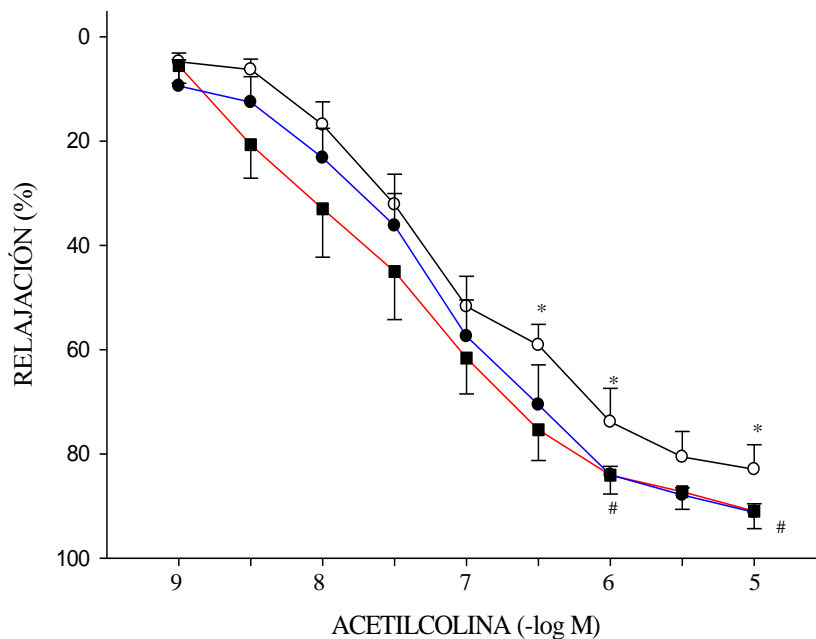
Para el estudio de la reactividad vascular en relación a la respuesta vasorelajadora en anillos aórticos de los diferentes grupos experimentales mostraron, que para anillos sin tejido adiposo perivascular (Figura 7-9), el efecto producido en las primeras concentraciones de acetilcolina en anillos del grupo Sa presentaron una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en relación a los grupo C y Fr, mostrando un comportamiento de respuesta mayor que los otros grupos a concentraciones iniciales, que posteriormente se disminuye llegando a tener porcentajes de respuesta igual que los otros dos grupos sin diferencia estadísticas significativas. Por el contrario, para los anillos aórticos con tejido adiposo perivascular (Figura 7-10), el efecto de relajación producido por la acetilcolina a las últimas concentraciones de prueba, mostraron diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ) para anillos de los grupos Sa y Fr con relación al grupo C; mostrando un comportamiento de respuesta mayor a concentraciones altas de acetilcolina de Sa y Fr contra el C, pero no así entre ellos (Sa -CG vs. Fr-CG).

RELAJACIÓN DE ANILLOS <sup>S</sup>/TEJIDO ADIPOSO



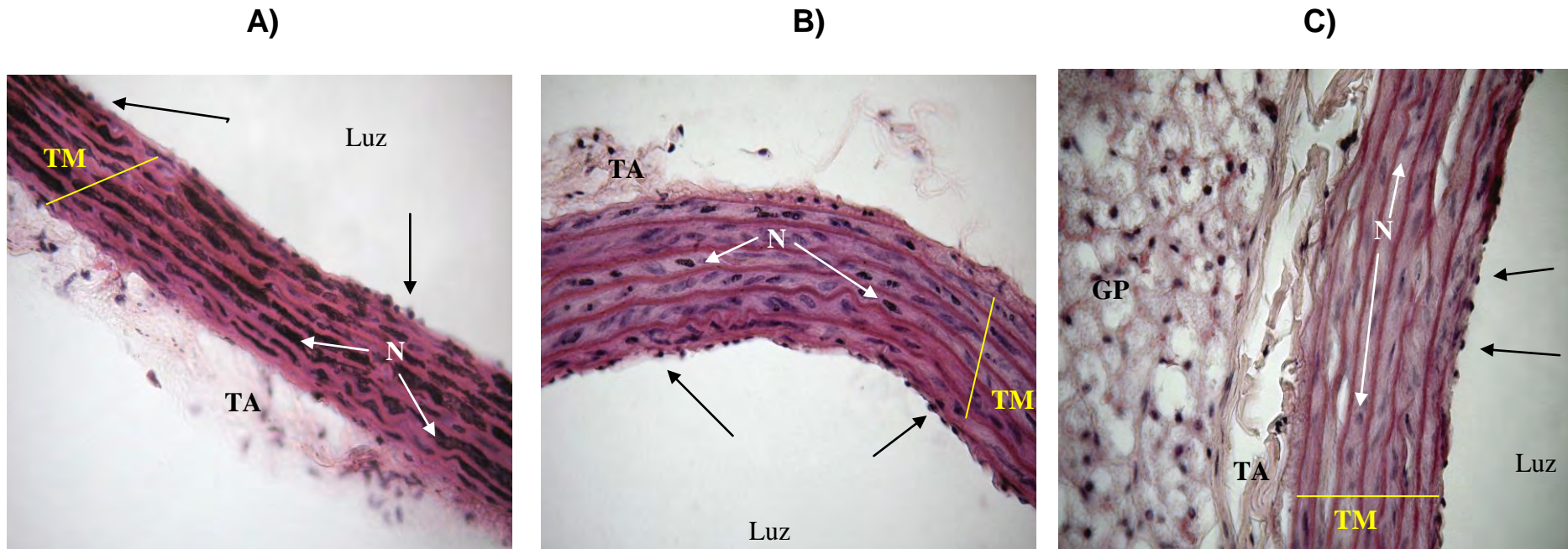
**Figura 7-9.** Curvas concentración-respuesta a la acetilcolina en anillos de aorta sin tejido adiposo perivascular. Se observa el efecto de los diferentes tratamientos experimentales (Control (O, C-SG), Sacarosa al 30% (■, Sa-SG), y fructosa al 30% (●, Fr-SG)) sobre la respuesta contráctil a 10 semanas de tratamiento. ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$  C-SG vs. Sa-SG, #  $p \leq 0.05$  C-SG vs. Fr-SG, + Sa-SG vs. Fr-SG.

RELAJACIÓN DE ANILLOS <sup>C</sup>/TEJIDO ADIPOSO



**Figura 7-10.** Curvas concentración-respuesta a la acetilcolina en anillos de aorta con tejido adiposo perivascular. Se observa el efecto de los diferentes tratamientos experimentales (Control (O, C-CG), Sacarosa al 30% (■, Sa-CG), y fructosa al 30% (●, Fr-CG)) sobre la respuesta contráctil a 10 semanas de tratamiento. ANOVA 1 vía, \*  $p \leq 0.05$  C-CG vs. Sa-CG, #  $p \leq 0.05$  C-CG vs. Fr-CG, + Sa-CG vs. Fr-CG.

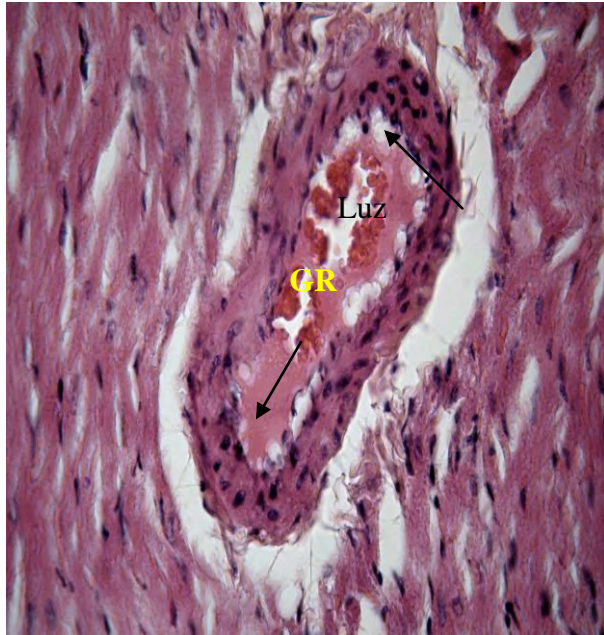
**D. Efecto del tratamiento alto en carbohidratos sobre la microarquitectura de aortas y corazones de ratas hembra, Wistar.**



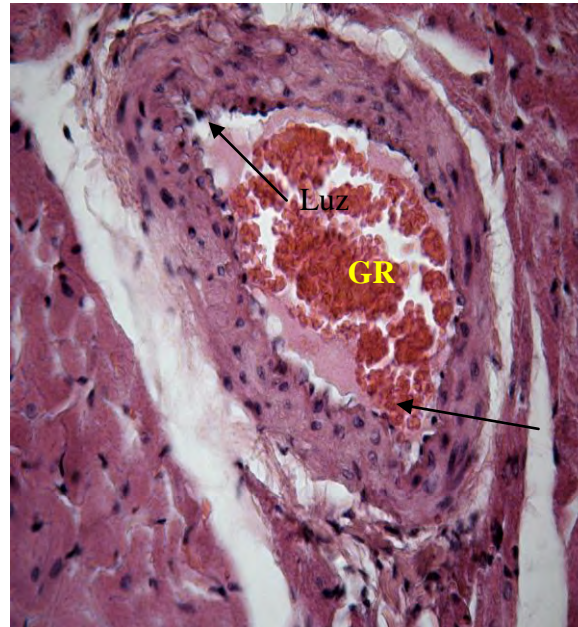
**Figura 7-11.** Micrografías de cortes de arterias elásticas (aortas) de los diferentes tratamientos experimentales. A) Grupo Control, B) Grupo Sacarosa al 30% y C) Grupo Fructosa al 30%. Fragmento de cortes transversales. Las flechas negras muestran la túnica íntima (células endoteliales) que revisten la superficie interna del vaso. La lámina elástica interna no se identifica fácilmente en ninguno de los grupos debido a que la íntima es rica en fibras elásticas. La túnica media (TM) está constituida por células de músculo liso, cuyos núcleos (N) se ven claramente. La túnica adventicia (TA) que consta principalmente de fibras de colágena y elásticas, sólo se muestra parcialmente en los diferentes grupos. La grasas perivascular (GP) que se encuentra en la arteria revisten la superficie externa de los vasos regulando la reserva de energía y termogénesis, entre otras funciones. Tinción H-E, 40X. 6 micras.



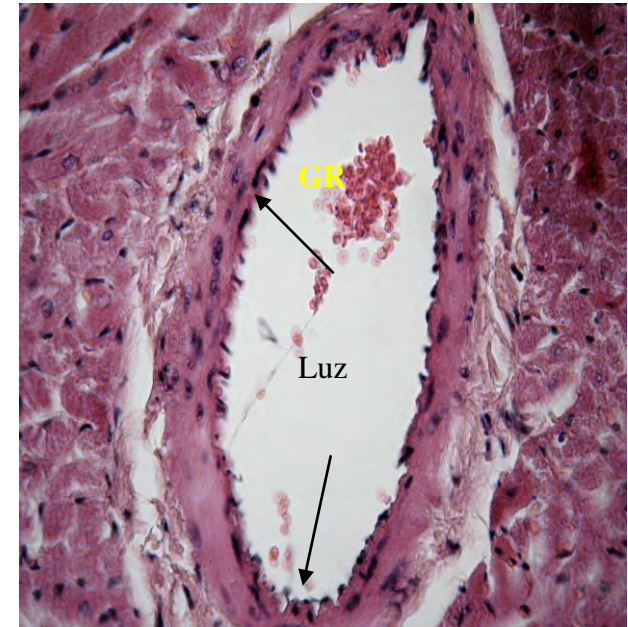
A)



B)



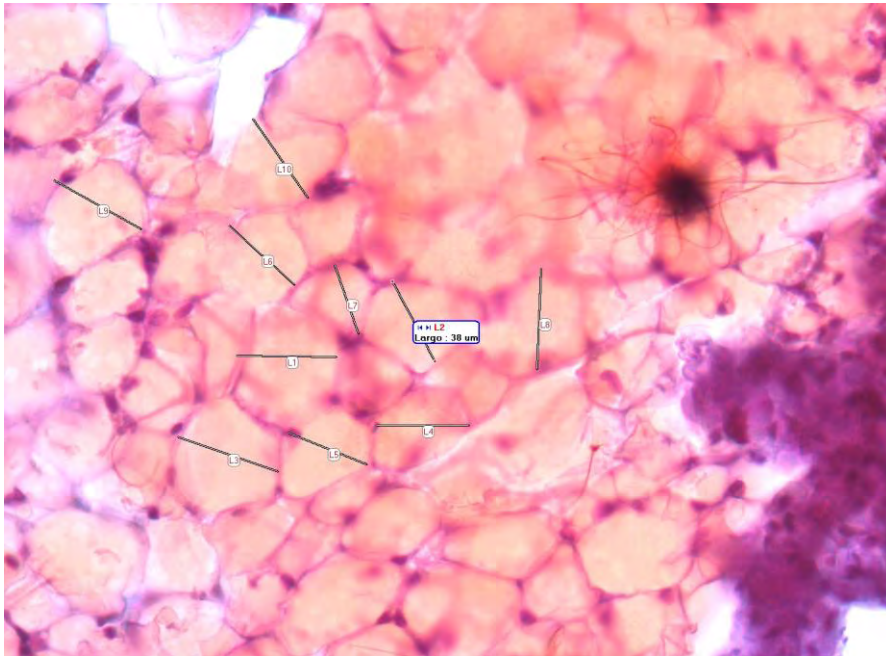
C)



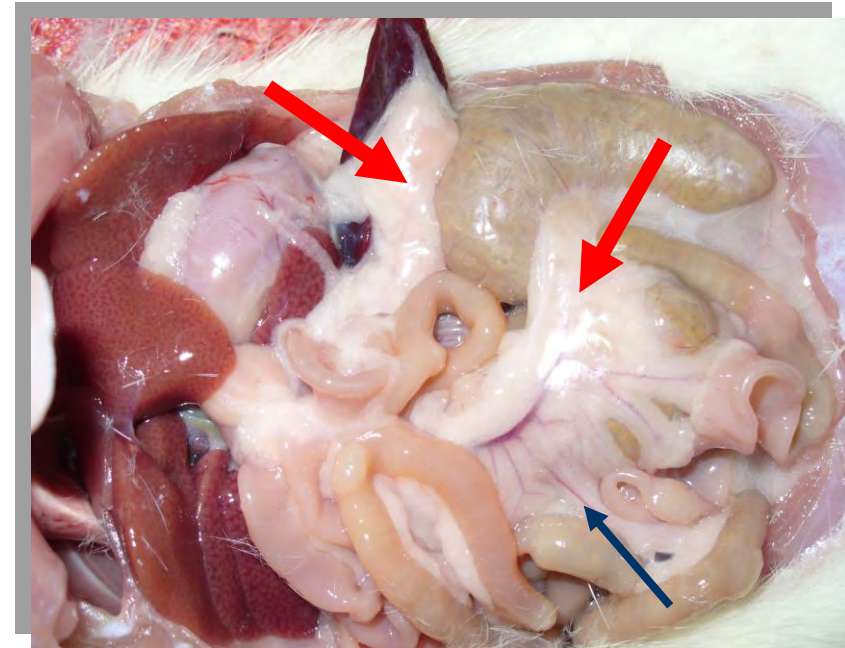
**Figura 7-12.** Micrografías de cortes del ventrículo izquierdo de rata. Los tratamientos experimentales son: A) Grupo Control, B) Grupo Sacarosa al 30% y C) Grupo Fructosa al 30%. Fragmento de cortes transversales. Las flechas muestran el núcleo de células endoteliales de una microarteria continua, rodeada de fibras musculares. Los capilares presentan glóbulos rojos (GR) como consecuencia del transporte de sangre y nutrientes a las capas externas del músculo cardiaco. Tinción H-E; 40X. 6 micras.

**E. Efecto del tratamiento alto en carbohidratos sobre el incremento y las diferencias morfológicas de los adipocitos de grasa perivascular, de ratas hembra, Wistar.**

- **GRUPO CONTROL.**



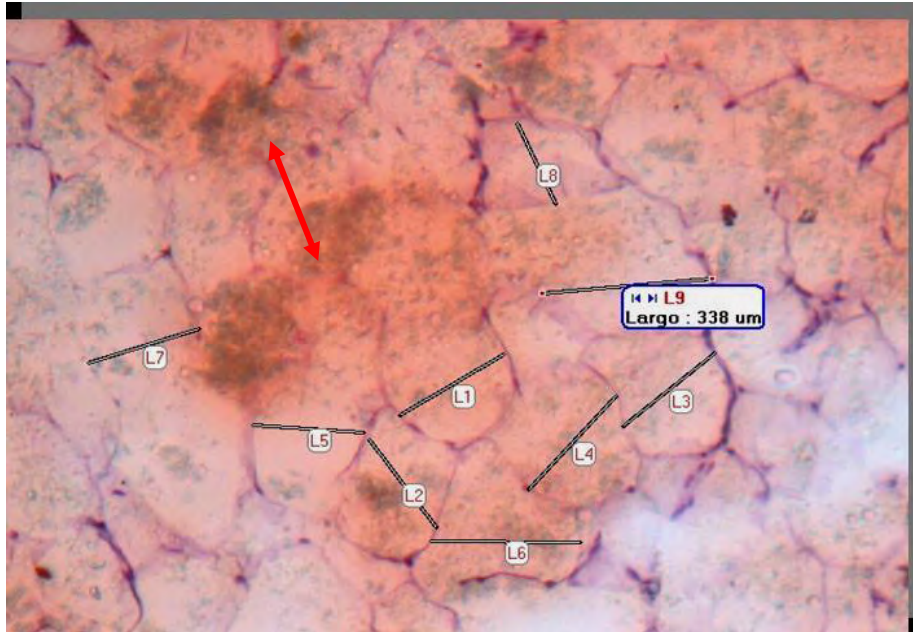
**Figura 7-13.** Micrografía de un corte de tejido adiposo perivascular, ratas del grupo control, coloreado con Sudán IV, técnica especial para grasa; los cortes fueron de 9-10 micras de grosor por medio de cortes por congelación. Obsérvese el adipocito, los núcleos se tiñen de azul, mientras que la grasa se tiñe de rojo-rosado debido al colorante liposoluble. El promedio del tamaño de los adipocito fue de 38 $\mu$ m (10 células x campo x 10 campos, 40X). Tinción rojo sudan. Cortes de 10 micras de grosor.



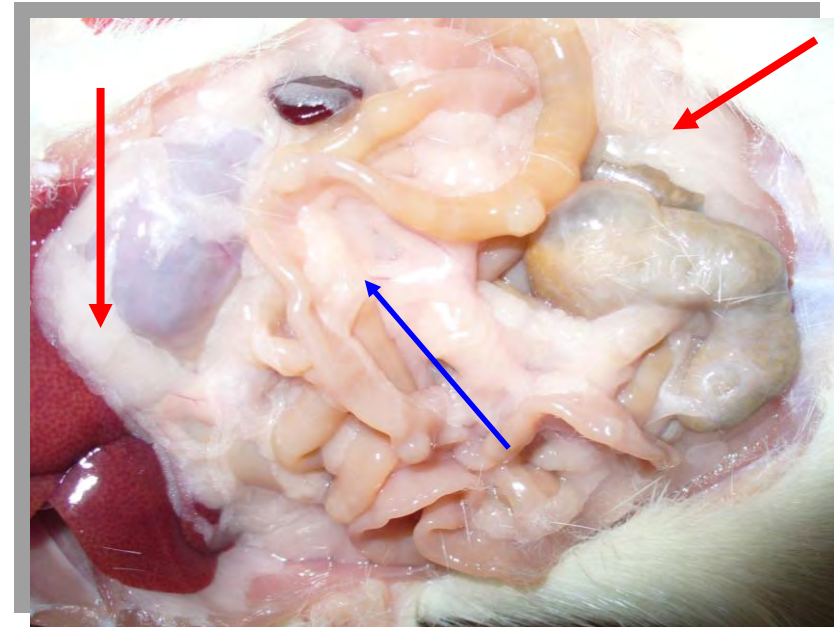
**Figura 7-14.** Fotografía de ratas controles que muestran la grasa abdominal (flechas rojas) desarrollada después de 10 semanas de tratamiento experimental. Obsérvese la cantidad de grasa que recubre a los intestinos y las arterias mesentéricas (flecha azul).



- GRUPO SACAROSA AL 30%.

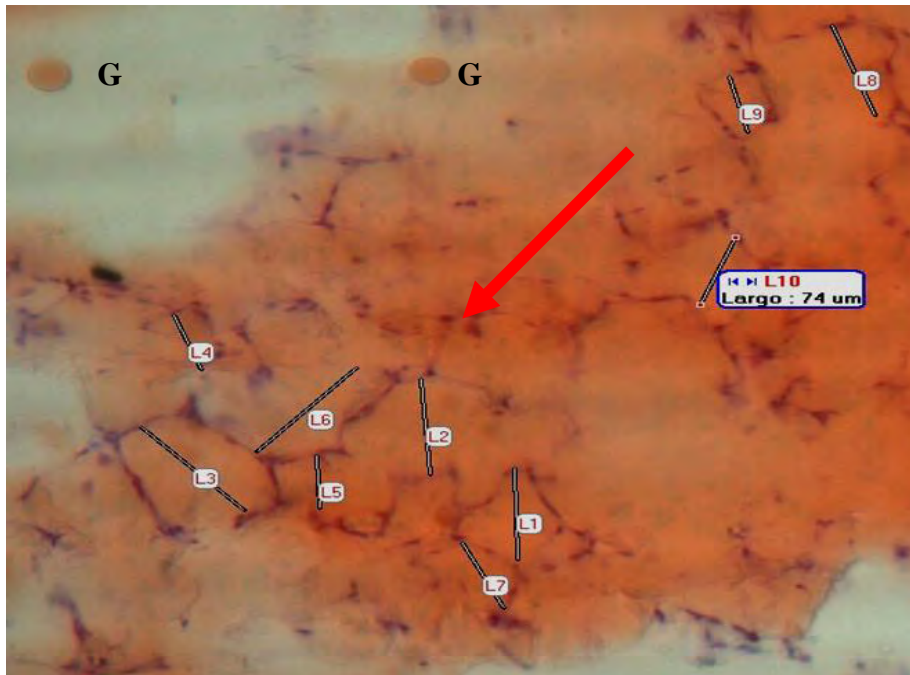


**Figura 7-15.** Micrografía de cortes de tejido adiposo perivascular, ratas del grupo Sacarosa al 30%, coloreado con Sudán IV, técnica especial para grasa; los cortes fueron de 9-10 micras de grosor por medio de cortes por congelación. Obsérvese los adipocito, muestran una pequeña necrosis (flecha roja), los núcleos se tiñen de azul, mientras que la grasa se tiñe de rojo-rosado debido al colorante liposoluble. El promedio del tamaño de los adipocito fue de 338 $\mu$ m (10 células x campo x 10 campos, 40X). Tinción rojo sudan. 10 $\mu$ m de grosor.

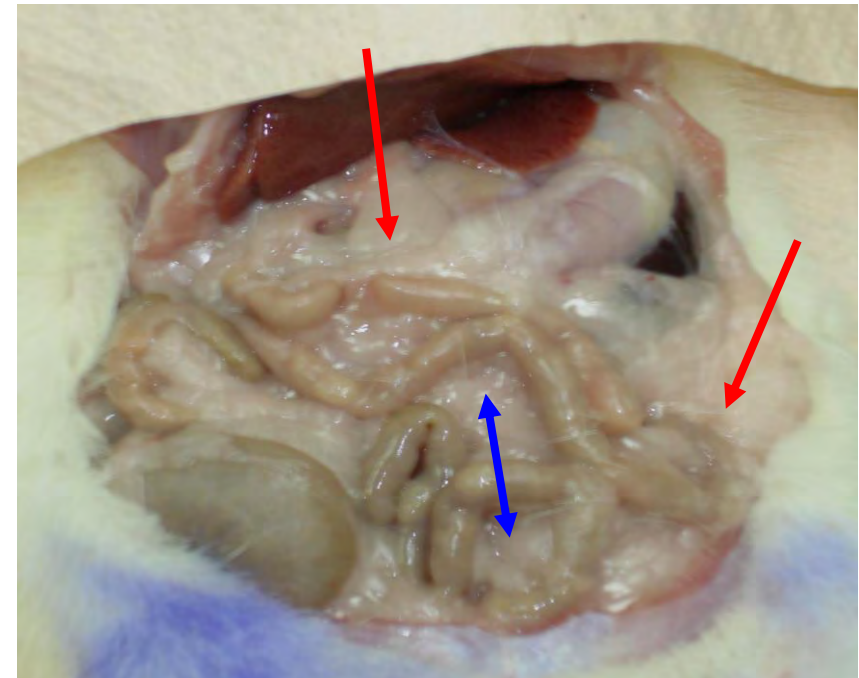


**Figura 7-16.** Fotografía de ratas con tratamiento con Sacarosa al 30% en el agua de beber. Se muestran la grasa abdominal (flechas rojas) desarrollada después de 10 semanas de tratamiento experimental. Obsérvese la cantidad de grasa que recubre a los intestinos, las arterias mesentéricas prácticamente no se notan (flecha azul).

- GRUPO FRUCTOSA AL 30%.



**Figura7-17.** Micrografía de cortes de tejido adiposo perivascular, ratas del grupo fructosa al 30%, coloreado con Sudán IV, técnica especial para grasa; los cortes fueron de 9-10 micras de grosor por medio de cortes por congelación. Obsérvese los adipocito, muestran necrosis (flecha roja) los núcleos se tiñen de azul, mientras que la grasa se tiñe de rojo-rosado debido al colorante liposoluble. Se muestran gotas de grasa que se arrastraron al momento de teñir (G). El promedio del tamaño de los adipocito fue de  $74\mu\text{m}$  (10 células x campo x 10 campos, 40X). Tinción rojo sudan.  $10\mu\text{m}$  de grosor.



**Figura 7-18.** Fotografía de ratas con tratamiento con fructosa al 30% en el agua de beber. Se muestran la grasa abdominal (flechas rojas) desarrollada después de 10 semanas de tratamiento experimental. Obsérvese la cantidad de grasa que recubre a los intestinos, las arterias mesentéricas prácticamente están rodeadas de grasa (flecha azul).

## **IX. DISCUSIÓN.**

Los carbohidratos (CHOS) a lo largo de la historia han formado parte fundamental en la dieta de los seres humanos; siendo éste en la actualidad un componente importante del requerimiento energético total del organismo. Sin embargo, hoy en día se ve relacionada con el desarrollo de una gran variedad de enfermedades crónico degenerativas, principalmente por una concentración alta de glucosa en sangre que se obtiene después de su ingesta a lo largo del tiempo; enfermedades como hiperglucemia, diabetes, hipertensión, resistencia a la insulina, síndrome metabólico, entre otras. Así también, muchas de las enfermedades de las que forma un factor de desarrollo, es por su alta facilidad de biotransformarse en lípidos para formar reservas de energía, dando lugar a la manifestación clínica de colesterol, triglicéridos, HDLc, LDLc y VLDLc elevados, que dan como resultado enfermedades como la obesidad, elevación de la presión arterial, arterosclerosis, entre otras; que en determinado caso se combinan con otras patologías siendo factores de predisposición uno del otro como es el caso de la obesidad y las enfermedades cardiovasculares (coronarias, cerebrovasculares, arterioscleróticas) u obesidad y diabetes.<sup>73</sup>

Actualmente cada año las enfermedades cardiovasculares causan 4.35 millones de muertes en Europa y 1.9 millones de muertes en la Unión Europea (UE) de las cuales el 55% son hombres y el 43% son mujeres, 48 millones de adultos en Europa y 23 millones de adultos en la UE tienen algún tipo de diabetes y la cifra sigue incrementándose. Del 15 al 20% de la población de Estados Unidos tiene presión arterial por encima de los 160/95 mmHg; en México ocupamos el segundo lugar a nivel mundial en sobrepeso y obesidad sólo después de Estados Unidos.<sup>74</sup>

Con base a éstos antecedentes, el propósito de éste trabajo fue el estudio de las alteraciones en la vasculatura derivada de una ingesta alta de los dos CHOS de mayor demanda en la población, como es el caso de la sacarosa (azúcar comercial) y la fructosa; poniendo de manifiesto la importante participación del tejido adiposo perivascular mediando las respuestas vasodilatadores inducidas por acetilcolina. Así mismo resultó interesante

investigar las alteraciones que produce el consumo excesivo de CHOS en la estructura de los adipocitos y el daño en la microarquitectura vascular relacionada con los cambios de algunos parámetros bioquímicos.

En diferentes estudios se ha observado que, el consumo alto de CHOS como: glucosa, sacarosa, fructosa; produce cambios en parámetros bioquímicos como la glucosa,<sup>32</sup> el colesterol, los triglicéridos,<sup>76</sup> lipoproteínas de baja y muy baja densidad.<sup>31,77</sup> Los resultados obtenidos en el presente trabajo sobre ratas Wistar, hembras, demuestran que realmente existe un incremento de glucosa, colesterol y triglicéridos del grupo con sacarosa con respecto al grupo control; esto concuerda con lo que se ha reportado en estudios clínicos de paciente obesos y lo reportado en la literatura; sin embargo, para el grupo de fructosa hay una elevación en la glucosa, disminución de la concentración de triglicéridos pero no en colesterol con relación al control. Éste evento podría explicarse por estudios y reportes que señalan que la fructosa se absorbe por difusión facilitada mientras que la glucosa por un transporte activo, determinando así la disponibilidad al momento de su captación en las células;<sup>24</sup> además, estructuralmente, por cada molécula de fructosa que se tiene que absorber, al romperse los enlaces  $\alpha(1-5)$  de la sacarosa, quedan dos moléculas como consecuencia de este proceso, una glucosa que entra por transporte activo y una fructosa que lo hace por difusión facilitada en las células, dando una relación 2:1 respectivamente.

Con base en lo anterior, es de esperarse que al tener una ingesta excesiva de fructosa y sacarosa, los niveles de ésta aumentan por la cantidad de moléculas que están disponibles en la sangre, sin embargo, la mayoría de las moléculas de fructosa sufren una serie de reacciones enzimáticas para poder biotransformarse en glucosa<sup>25</sup> y así poder ser utilizada en éste arreglo estructural por las células, más que como fructosa. Paradójicamente, la fructosa es absorbida de manera más rápidamente que la sacarosa,<sup>20</sup> entra a las células con mayor facilidad debido a su no dependencia a la insulina para ser captada,<sup>25</sup> pero su tasa de utilización es constante y menor que la de la sacarosa por la gran cantidad de reacciones enzimáticas que sufre para ser utilizada en la célula o convertirse en reserva de energía (grasa).<sup>24</sup>

Lo anterior, también explica en cierto punto la concentración de LDLc, “colesterol bueno”, determinada en los tres grupos, en el cual no existe una diferencia estadística significativa; éstos resultados obtenidos difieren con los resultados de algunos autores,<sup>32,77,78</sup> realizados en ratas macho, lo cual no concuerda con nuestro modelo experimental ya que en el presente estudio se utilizó ratas hembras, y éstas, gran parte de las funciones biológicas están mediadas por mecanismos hormonales.

Las consecuencias cardiovasculares sobre el consumo alto de CHOS, ha sido identificado en varios estudios,<sup>30,77</sup> en donde se muestra su participación en una gran variedad de mecanismos en las alteraciones que se presentan como es la hipertensión, entre otras; el papel de la ingesta elevada de sal, glucosa en sangre, efectos de la hiperinsulinemia<sup>79</sup> o por una liberación excesiva de catecolaminas,<sup>80</sup> que se desarrollan con dietas ricas en carbohidratos y que intervienen directamente en la regulación de la presión arterial. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que no existen diferencias de la PAM de los diferentes grupos tratados con respecto a sus controles. Lo que hace sugerir que la presión arterial es dependiente en estas condiciones, del sexo ya que las ratas utilizadas en éste estudio fueron jóvenes y no interviene el factor edad<sup>81</sup> y que el efecto observado, se pudiera deber, principalmente, a la participación de las hormonas sexuales siendo un factor crucial al conferir protección contra los efectos de una dieta elevada en fructosa o sacarosa y su relación con la presión arterial.

Ésta hipótesis se ve corroborada con los trabajos de Galipeau D. y col.<sup>82</sup> donde evalúan los cambios producidos en hiperinsulinemia e hipertensión por una alimentación con fructosa durante 9 semanas, resultando una ausencia en cambios significativos de éstos parámetros en ratas hembra, Wistar. Por otro lado, Song D. y col.<sup>83</sup> y Vasudevan H. y col.<sup>84</sup> llegan a la misma conclusión en ratas hembras y machos con dietas altas en CHOS, adicionando que para que exista un desarrollo de éstas patologías en las ratas machos es necesario la presencia de hormonas sexuales androgénicas como la testosterona.

Se ha reportado en la literatura que los monosacáridos que se obtienen de la dieta, al ser transportados a la vena porta por la sangre llegan directamente al hígado. En éste órgano, son oxidados para producir energía, o ser biotransformados para su posterior almacenamiento como glucógeno en los músculos. Cuando existe un exceso de glucosa en la sangre, ésta tiende a seguir caminos de biotransformación a grasas, y almacenarse en los adipocitos de manera directa con relación a la cantidad consumida y presente en la sangre.<sup>15,20,21,24</sup> Los resultados obtenidos indican que la cantidad de azúcar ingerido y la cantidad de glucosa presente en la sangre está estrechamente ligada al desarrollo de tejido adiposo que se forma en la periferia de los vasos sanguíneos y en los depósitos más comunes (para mujeres ginoide y para hombres androide); además que existe una tendencia del depósito de grasas con relación al tipo de CHOS ingerido (figuras 7-13 a 7-18). Los resultados obtenidos en éste estudio, indican que la concentración de glucosa presente en la sangre derivada del tratamiento experimental, ésta ligada directamente con el incremento del diámetro de los adipocitos; siendo mayor en la sacarosa que en la fructosa; esto debido a sus propiedades estructurales y metabólicas en el cuerpo.

También se ha descrito que los adipocitos juegan un papel crucial en el consumo de los alimentos, tienen una gran capacidad de almacenar energía en forma de lípidos que pueden ser metabolizados rápidamente y que forman ácidos grasos libre para ser usados en la producción de energía o en la termogénesis del cuerpo.

Con base en lo anterior, la relación que existe entre las dietas ricas en calorías y la formación de depósitos de grasa es proporcional al aumento de peso; además, varios autores afirman<sup>7-12,36-39</sup> que el propio adipocito participa en la regulación de la concentración de glucosa en sangre. Recientemente se ha reportado que la participación de las células adiposas en el organismo es considerado como un órgano endocrino debido a la producción de sustancias bioactivas autócrinas, parácrinas y endócrinas en la regulación de la homeostasis de la glucosa y las grasas en el organismo, más que como anteriormente se consideraba, como un reservorio de energía.



Por otro lado, en el organismo existen mecanismos homeostáticos que en condiciones normales mantienen el tono vascular dentro de estrechos márgenes. Sin embargo, cuando estos mecanismos se pierden, alteran la función vascular. Una de la causa más común en los vasos sanguíneos de alterar la disposición estructural y la función vascular es debido a fuerzas hidromecánicas por medio del estrés (fuerza de rozamiento), cantidad de roce y fricción que sufren las células endoteliales ocasionadas por el flujo de sangre (flujo laminar) y la presión o fuerza que se ejerce en una superficie, modulando la producción de óxido nítrico (NO, por sus siglas en inglés).<sup>85</sup>

Uno de los objetivos planteados en éste trabajo por una ingesta alta en sacarosa y fructosa, fue el estudio del efecto o deterioro en la microarquitectura vascular de aortas y corazones de los animales tratados con carbohidratos. Las micrografías de los cortes histológicos de los diferentes grupos experimentales muestran, que no existe realmente una diferencia en el deterioro de la microarquitectura de las aortas y de las microarterias que irrigan las capas externas que constituyen el músculo cardíaco del corazón; lo que indica que las células endoteliales de los vasos que entran en contacto con la sangre y modulan el tono vascular, a pesar de que sufren un deterioro constante por el aumento de la viscosidad y estrés (fuerzas hidráulicas), debido al aumento de biomoléculas en la sangre (glucosa, colesterol, triglicéridos entre otras) y la disminución del flujo sanguíneo (aumento de la viscosidad), presenta una regeneración constante que revierte éste efecto, pero que en condiciones crónicas donde la prolongación del tratamiento por más tiempo o con concentraciones elevadas probablemente presentaría un deterioro importante.

Esto es consistente con reportes e investigaciones previas,<sup>50</sup> en los cuales muestran que, la pared arterial está expuesta a los efectos de varias fuerzas mecánicas que resultan del flujo y la presión oscilante, que estiran y deforman las capas más internas de la arteria, las cuales están en contacto más estrecho con el lumen, principalmente el endotelio. Uno de los aspectos sobresalientes de la biología endotelial es la constante adaptación de este tejido a las fuerzas biomecánicas vasculares que impiden a los procesos

mecánicos afectar la función y la estructura del endotelio normal y prevenir enfermedades que se deriven de una disfunción endotelial.<sup>50,85</sup>

Por otro lado, se ha establecido que el NO desempeña un primordial papel en la regulación del tono vascular y la presión sanguínea; así también, se ha demostrado que las células endoteliales estimuladas con acetilcolina, producen NO,<sup>86</sup> favoreciendo las respuestas vasorelajantes. El NO, es generado dentro del endotelio normal por la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS, por sus siglas en inglés), lo que indica que si se llega a producir una disfunción endotelial, se producirá una alteración en la regulación del tono vascular y la presión sanguínea. Además, morfológicamente, los vasos sanguíneos presentan una “capa externa” de tejido adiposo perivascular que los recubre extravascularmente y que funciona como reservorio de energía y fuente de termorregulación. Sin embargo, las células adiposas en la actualidad son consideradas como un órgano endocrino con la maquinaria y la materia prima necesaria para generar sustancias bioactivas, que funcionan de manera parácrina, autócrina y endócrina en el organismo; de esta manera se planteó la hipótesis de la participación del tejido adiposo perivascular en la modulación del tono vascular.

El estudio de determinar la participación de la grasa sobre las respuestas vasculares de la aorta resulta fundamental en este trabajo, por lo que el modelo experimental planteó evaluar anillos con y sin tejido adiposo perivascular, observándose una relación dependiente de las concentraciones de acetilcolina sobre la respuesta relajante en anillos de aorta de los diferentes grupos experimentales, en condiciones basales, presentándose, además, una relajación adicional en los anillos de ratas con tejido adiposo perivascular principalmente a concentraciones altas.

Los resultados muestran que el tejido adiposo perivascular tiene una relación (modulación del tono vascular) en la relajación de anillos aórticos dependiente a la acetilcolina, más que la dieta rica en sacarosa o fructosa después de 10 semanas; pero en éste tiempo, la dieta sí interviene en el desarrollo y crecimiento de las células adiposas, lo cual se puede ver en las

micrografías de los diferentes grupos experimentales. Así, se puede plantear la idea de que existe también, una relación entre el tamaño de los adipocitos y la respuesta relajante en los anillos aórticos.

Algunos investigadores como Núñez, GP<sup>81</sup> demostraron la participación del tejido adiposo perivascular en la modulación del tono vascular derivado de una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) en un modelo de hipertensión; concluyendo que los ácidos grasos proporcionados y la grasa derivada de esta dieta, facilitan la relajación vascular en respuesta a la acetilcolina dependiente del endotelio.

Sin embargo, este trabajo no evidencia claramente si el efecto relajante producido en anillos aórticos derivado de la participación de la grasa, es por la grasa misma ó por el consumo de los ácidos grasos monoinsaturados durante 10 semanas en los diferentes grupos experimentales.

Por otro lado, varios grupos de autores<sup>87-90</sup> han demostrado hasta el momento que, sí existe realmente un efecto producido por los adipocitos en cuanto a la modulación del tono vascular por medio de un factor transferible denominado “Factor Relajante Derivado de los Adipocitos” (FRDA ó ADRF por sus siglas en ingles) en anillos de arterias mesentéricas; y que este efecto se lleva a cabo por medio de un mecanismo de aperturas de canales de K<sup>+</sup> dependientes del ATP (K<sub>ATP</sub>) y que la acción no depende de la síntesis de NO o del endotelio; además, éste efecto no sigue la vía de activación de la ciclooxigenasa o P450, ni la activación de receptores de adenosina o es dependiente de receptores específicos a leptina.

Así, con base en lo anterior, se ven reforzados los resultados obtenidos en el presente trabajo; sin embargo, estos no muestran el factor transferible específico que produce el efecto de relajación; pero sí afirma que se deriva de la grasas perivascular, así la hipótesis de que este efecto de relajación se encuentra en relación directa con el tamaño de los adipocitos; como lo muestran los resultados obtenidos en este trabajo, no está fuera de lugar.

Estos acontecimientos no son todavía muy claros, sin embargo, los nuevos retos que plantea ésta incógnita nos sugieren que los alcances de éste factor transferible podrían cambiar las perspectivas de las terapias que actualmente se llevan a cabo para combatir patologías como la hipertensión arterial, obesidad, diabetes ó diferentes patologías con una morbilidad alta en la población mundial.

## **X. CONCLUSIONES.**

Los resultados obtenidos del presente trabajo, bajo nuestras condiciones experimentales, nos permiten concluir que:

\* El consumo excesivo de carbohidratos, ya sea fructosa o sacarosa, modifica la concentración de glucosa en sangre; sin embargo se ve un mayor incremento de colesterol y triglicéridos del consumo de sacarosa que de fructosa.

\* La ingesta alta de fructosa y sacarosa, no incrementa la presión arterial, en comparación con modelos experimentales publicados en machos, lo que nos indicaría que ésta depende del sexo.

\* La grasa perivascular promueve una menor sensibilidad al estímulo adrenérgico producido por noradrenalina en aortas de ratas normotensas; que se podría atribuir a los adipocitos en una relación directamente proporcional a su tamaño.

\* La grasa perivascular de las ratas sometidas a los diferentes tratamientos facilita la relajación vascular en anillos de aortas en respuesta a la acetilcolina en contraste con vasos desprovistos de ella y preserva la función endotelial.

\* El efecto vasorelajante del factor transferible del tejido adiposo perivascular se encuentra en relación directa con el tamaño de los adipocitos.

\* La dieta rica en fructosa y sacarosa, no promueve un deterioro significativo en la microarquitectura vascular (daño endotelial) de aortas y microarterias del corazón, que es producido por el estrés de fuerzas hidromecánicas como el flujo laminar sanguíneo.

\* El consumo excesivo de sacarosa y fructosa, incrementa de manera directa el diámetro de los adipocitos, determinando así, que la ingesta crónica da como resultado el desarrollo de un estado patológico como es el de la obesidad.

## **XI. PERSPECTIVAS.**

De acuerdo a los resultados obtenidos donde la grasa perivascular se ve incrementada después de una ingesta alta de carbohidratos consumidos en la dieta diaria, sacarosa y fructosa, y que su participación es relevante en la reactividad vascular, en el crecimiento de los adipositos así como en la alteración del perfil bioquímico (glucosa, LDLc, triglicéridos, etc.), entre otros, resultaría interesante investigar en tratamientos crónicos mas allá de 10 semanas:

- La potencial participación de las hormonas sexuales así como la edad de los animales en estudio
- Determinar las posibles alteraciones en la microarquitectura vascular de otros órganos fundamentales (corazón, hígado, etc.).
- Identificar el factor transferible liberado por la grasa perivascular y su nivel de participación en la relajación y vasoconstricción de los vasos sanguíneos.
- Realizar un estudio comparativo entre ratas hembras y machos bajo las mismas condiciones experimentales para dilucidar las diferencias de las alteraciones cardiovasculares de los diferentes carbohidratos entre los dos géneros.
- Alteraciones en parámetros bioquímicos como la insulina, ácido úrico y HDLc.

## XII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Junqueira L C, Carneiro J. *Histología básica*. 3ª edición. España: Editorial Salvat editores, 1987: 127-132, 231-244.
2. Fawcett W. *Tratado de histología*. 12ª edición. España: Editorial Interamericana McGraw-Hill, 1988: 189-201.
3. Bargmann W. *Histología y anatomía microscópica humana*. 2ª edición. México: Editorial LABOR, 1964: 120-125.
4. Leeson T. Leeson R. Paparo A. *Atlas de histología*. México: Editorial Interamericana McGraw-Hill, 1990: 141, 150-153.
5. Stiteri PK. *Adipose tissue as a source of hormones*. Am J Clin Nutr. 1997; 5: 277-282.
6. Zhang Y, Proenca R, Maffel M, Barione M, Leopold L, Friedmann JM. *Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue*. Nature. 1994; 372: 425 -432.
7. Pérez Mayorga M. *El adipocito como órgano endocrino. Implicaciones fisiopatológicas y terapéuticas*. Rev. Med. 2007; 15 (2): 225-242.
8. Ronti, Tiziana, Graziana, Mandarino E. *The endocrine function of adipose tissue: an update*. Clinical Endocrinology. 2006; 64: 355-365.
9. Thalmann S, Meier C A. *Local adipose tissue depots as cardiovascular risk factor*. Cardiovascular Research. 2007; 75: 690-701.
10. Fantuzzi G. *Adipose tissue, adipokines, and inflammation*. J Allergy Clin Immunol. 2005; 115 (5): 911-919.
11. Berg HA, Scherer EP. *Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease*. Circ Res. 2005; 96: 939-949.

12. Sánchez SB. *Vías de señalización que participan en la regulación de la lipólisis en adipocitos*. REB. 2006; 25 (3): 80-84.
13. Macedo MG. *Los alimentos funcionales, un reto para el siglo XXI*. Nutrición Clínica. 2002; 5 (3): 130-136.
14. Günter V. Günter J. Dieter S. Wolfgang S, Norvert V. *Elementos de bromatología descriptiva*. Zaragoza: Editorial ACRIBA, 1999: 239-251.
15. Lehninger AL. *Bioquímica*. 5ª reedición. Barcelona: editorial Omega, 1972: 231-240, 305-350.
16. Escote-Stump S. *Nutrición, Diagnóstico y tratamiento*. 5ª edición. México: Editorial McGraw Hill, 2005: 218-441.
17. Harrow B. *Tratado de bioquímica y manual de prácticas de bioquímica*. 5ª edición. México: editorial Atlante, 1980: 120-143.
18. American Dietetic Association. *Position of the American Dietetic Association: Use of Nutritive and Nonnutritive Sweeteners*. J Am Diet Assoc. 2004; 104: 255-275.
19. Hanover LM, White JS. *Manufacturing, composition, and applications of fructose*. Am J Clin Nutr. 1993; 58: 724S-732S.
20. Toporek M. *Bioquímica*. 2ª edición. México: Editorial Interamericana, 1983: 144-175.
21. Laguna J, Piña GE. *Bioquímica de Laguna*. 5ª edición. México: Editorial El manual moderno, 2002: 271-324.
22. The Merck Index. *An encyclopedia of chemical, drugs, and biological*. 11ª edición. Rahway, N. J., USA: Publisher MERCK & CO., 1989: 669,1401.
23. Díaz Hernández DP. Burgos Herrera L C. *¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?* IATREIA. 2002; 15: 179- 189.



24. Harper HA, Rodwell V W, Mayes P A and col. *Manual de química fisiológica*. 6ª edición. México: Editorial El manual moderno, 1978: 277-304.
25. Pérez CE, Serralde AE, Meléndez MG. *Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa*. *Endocrinología y Nutrición*. 2007; 15 (2): 67-74.
26. Kellett GL, Helliwell PA. *The diffusive component of intestinal glucose absorption is mediated by the glucose-induced recruitment of GLUT 2 to the brush-border membrane*. *Biochem J*. 2000; 350:155-162.
27. Mayes PA. *Intermediary metabolism of fructose*. *Am J Clin Nutr*. 1993; 58: 754S-765S.
28. Hallfrisch J. *Metabolic effects of dietary fructose*. *The FASEB Journal*. 1990; 4: 2652-2660.
29. Moyer EA, Rodin J. *Fructose and behavior: does fructose influence food intake and macronutrient selection?*. *Am J Clin Nutr*. 1993; 58: 810S- 814S.
30. Johnson JR y col. *Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease*. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86: 899-906.
31. Heather B, Lisa F, Khosrow A. *Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia*. *Nutrition & Metabolism*. 2005; 2: 5.
32. Barros CM y col. *Substitution of drinking water by fructose solution induces hyperinsulinemia and hyperglycemia in hamster*. *CLINICS*. 2007; 62 (3): 327-334.
33. Tortora GJ. *Principios de anatomía y fisiología*. 9ª ed. Mexico: Editorial Oxford University Press, 2002: 686-700.
34. Herman M. *Glucose transport and sensing in the maintenance of glucose homeostasis and metabolic harmony*. *J. Clin. Invest*. 2006; 116: 1767-1775.

35. Minokishi Y, Kim YB. *Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activate protein kinase*. Nature. 2002; 415: 339-343.
36. Bletowski J. *Apelin and visfatin: Unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity?*. Med Sci Monit. 2006; 12 (6): 112-119.
37. Yang, R. *Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action*. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2006; 290: E1253–E1261.
38. Fukuhara A, Matsuda M. *Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin*. Science. 2005; 307: 426-430.
39. Banerjee R. *Regulation of fasted blood glucose by resistin*. Science. 2004; 303: 1195-1198.
40. Engeli S, Schling P, Gorzelniak K, Boschmann M, Janke J. *The adipose tissue renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome?*. Int J Biochem Cell. 2003; 35: 807-825.
41. Graham T. *Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects*. N. Engl. J. Med. 2006; 354: 2552-2563.
42. Bargmann W. *Histología y anatomía microscópica humana*. 2ª edición. Barcelona: Editorial LABOR, 1964: 278-300.
43. Helmut L. *Histología, citología y microanatomía humana*. Barcelona: Editorial Salvat editores, 1975: 198-212.
44. Laterjet M, Ruiz L A. *Anatomía humana*. 2ª edición. México: editorial Panamericana, 1989: 1067-1077.
45. Leslie PG, James LH. *Atlas a color de histología*. 2ª edición. Buenos Aires: Editorial Panamericana, 1995: 144-157.

46. Gayton A, Hall J. *Tratados de fisiología médica*. 9ª edición. USA: Editorial Mc Graw-Hill, 1997: 217-256.
47. Cruz MA y col. *Regulación normal de la presión arterial sistémica*. Rev Mex Cardiol. 2004; 15 (1): 30-41.
48. Dustan HP. *Pathophysiology of systemic hypertension*. New York: Editorial McGraw-Hill, 1990: 1140-1150.
49. Ganong WF. *Manual de fisiología médica*. México: Editorial El Manual Moderno, 1992: 531-532.
50. Meaney E. *El papel del endotelio en las alteraciones cardiovasculares; estructura y función*. México: Editorial MIND México, 1999: 3-33.
51. Melgarejo RE. *El endotelio: 25 años después*. Rev. Med. 2005; 13 (1): 45-61.
52. Simionescu M. *Biochemical and functional differentiation of the endothelial cell plasma membrane*. México: Sociedad Mexicana de Cardiología, 1994: 19-39.
53. López FA, Jiménez P, Mateos C, García MA. *Inflamación y disfunción endotelial*. Anales de Cirugía Cardíaca y Vascul. 2005; 11 (1): 45-48.
54. Badimón L, Martínez GJ. *Endotelio en la protección vascular: nuevos conocimientos*. Rev. Esp. Cardiol. 2005; 55 (1): 17-26.
55. Badimón L, Martínez GJ. *Disfunción endotelial*. Rev. Esp. Cardiol. 2006; 6: 21A-30A.
56. María OS, Palmer L, Sasseti B. *Endotelina-1, óxido nítrico y factor von Willebrand en pacientes hipertensos diabéticos tipo 2*. Acta Bioquím. Clín. Latinoam. 2004; 38 (4): 471-476.

57. Hua C, David GH. *Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases. The Role of Oxidant Stress. Circ Res.* 2000; 87: 840-844.
58. Ceballos RG, Ramírez SI, Calzada MCC, Olivares CIM. *Disfunción endotelial y estrés oxidativo. Rev. Endocr. Nutri.* 2006; 14 (4): 233-236.
59. Alfieri AB. *Óxido nítrico: estudio sobre su papel como mediador en diversas funciones fisiológicas y fisiopatológicas. Acad. Bioméd.* 2003; 16:1-57.
60. Gutiérrez CML. Quintero P. Boyocá F. Aceros HA. *Fundamentos de Óxido Nítrico como agente vasodilatador. Univ. Med.* 2001; 42(4): 186-190.
61. Wittle BJR. *Nitric oxide in physiology and pathology. Histochemical Journal.* 1995; 27: 727-737.
62. Durazo QF. *El óxido nítrico en medicina. Gac Méd Méx.* 2007; 143 (5): 401-405.
63. Keston AS. *Abstract of papers, 129th meeting am. Chem. Soc.* 1956; 31c.
64. Trinder P. *Ann. Clin. Biochem.* 1969; 6: 24.
65. Emreson EJ, y col. *Org. Chem.* 1938; 3: 153.
66. Young DS. *Effects of drug on clinical lab. Tests.* 4<sup>th</sup> edition. AACC Press, 1995.
67. Naito HK. *Cholesterol. Clin. Chem.* 1984; 437: 1194-1206.
68. Buccolo G, y col. *Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin. Chem.* 1973; 19 (5): 476-482.
69. Fossati P y col. *Clin. Chem.* 1982; 28 (10): 2077-2080.
70. Jacques WMD. *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. 4<sup>a</sup> edición. Barcelona: Editorial MASSON, 2002: 147-206.*
71. Kaplan A, y col. *Urea. Clin. Chem.* 1984; 437: 1257-1260.
72. Kaplan A, y col. *Lipoproteins. Clin. Chem.* 1984; 437: 574-577.

73. Rahmouni K. y col. *Hipertensión asociada con obesidad. Nuevos enfoques en sus mecanismos*. Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial 2005; 45: 3-14.
74. Petersen S. Peto V. and Rayner M. *European cardiovascular disease statistic*. Edición 2005. University of Oxford: Department of Public Health, 2005: 2-13.
75. Kazumi T. y col. *Effects of dietary fructose or glucose on triglyceride production and lipogénica enzyme activities in the liver of Wistar fatty rats, an animal model of NIDDM*. Endocr. J. 1997; 44 (2): 239-245.
76. Kanarek RB, Orthen-Gambill N. *Differential effects of sucrose, fructose and glucose on carbohydrate-induced obesity in rats*. J. Nutr. 1982; 112: 1546-1554.
77. Hwang I-S, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. *Fructose-Induced insulin resistance and hypertension in rats*. Hypertension 1987; 10: 512-516.
78. Park OJ y col. *Mechanisms of fructose-induced hypertriglyceridaemia in the rat*. Biochem. J. 1992; 282: 753-757.
79. Zavaroni I y col. *Risk factors for coronary artery disease in healthy person with hiperinsulinemia and normal glucose tolerance*. N. Engl. J. Med. 1989; 320: 702-726.
80. Fournier RD y col. *Refined carbohydrates increase blood pressure and catecholamine excretion in SHR and WKY*. Am. J Physiol. 1986; 250: E381-E385.
81. Participación de los aspectos nutricionales en un modelo de hipertensión arterial. Lic. Nutr. P. I. Núñez Gonzáles. Tesis de Maestría, Agosto, 2007.

82. Galipeau D, Verma S, McNeill JH. *Female rats are protected against fructose-induced changes in metabolism and blood pressure.* Am J Physiol. 2002; 283: H2478-H2484.
83. Song D, Arikawa E, Galipeau D, Battell M, McNeill JH. *Androgens are necessary for the development of fructose-induced hypertension.* Hypertension; 43: 667-672.
84. Vasudevan H, Xiang H, McNeill JH. *Differential regulation of insulin resistance and hypertension by sex hormones in fructose-fed male rats.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2005; 289: H1335-H1342.
85. Bevan JA. *Influence of flow on vascular tone.* Op. Cit., 93-108.
86. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.* Nature. 1987; 327 (11): 524-526.
87. Soltis EE, Cassis LA. *Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness.* Clin Exp Hypertens A. 1991; 13 (2): 277-96.
88. Löhn M. and col. *Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor:* FASEB 2002; 16: 1057-1063.
89. Dubrovskaja G y col. *Mechanisms of ADRF release from rat aortic adventitial adipose tissue.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004; 286: H1107-H1113.
90. Verlohren S. and col. *Visceral Periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries.* American Heart Association 2004; 44: 271-276.