



UNIVERSIDAD MICHOCANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**EFFECTO DEL ACEITE DE AGUACATE SOBRE LAS RESPUESTAS
ENDOTELIALES EN LA AORTA DURANTE EL INICIO DE LA DIABETES MELLITUS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:
DANIEL OLVERA ROMERO

DIRECTORES DE TESIS:
D.C. DANIEL GODÍNEZ HERNÁNDEZ
M.C HÉCTOR URQUIZA MARÍN

MORELIA, MICHOACÁN, AGOSTO DE 2010.

INDICE GENERAL

Índice general.....	ii
Abreviaturas.....	iii
Resumen.....	iv
I. Introducción.....	1
1. Vasos sanguíneos.....	1
1.1. Las arterias.....	1
1.2. El endotelio.....	2
1.3. Funciones del endotelio vascular.....-	2
1.4. Factores relajantes endoteliales.....	3
1.5. El oxido nítrico.....	3
1.5.1. Síntesis del oxido nítrico.....	4
1.5.2. Función del oxido nítrico en el tejido vascular.....	5
1.6. Factor hiperpolarizante derivado del endotelio.....	6
1.7. Prostaciclina.....	7
1.7.1. Factores contráctiles derivados del endotelio.....	8
1.7.2. Prostaglandinas.....	9
1.7.3. Inhibidores de las ciclooxigenasas.....	10
1.7.4. Mecanismo de inhibición de las ciclooxigenasas	11
1.7.5. Tromboxano.....	13
2. Diabetes mellitus.....	13
2.1. Definición.....	13
2.2. Producción de insulina.....	13
...	
2.3. La función de la insulina sobre la glucosa.....	14

2.4. Diabetes Mellitus tipo I.....	16
2.5. Diabetes Mellitus tipo II.....	16
2.6. Diabetes en México.....	17
2.7. Disfunción endotelial en la diabetes.....	18
2.7.1 Regulación de la permeabilidad vascular.....	18
2.8. Efecto de la diabetes sobre las reactividades vasculares.....	18
3. Aguacate.....	20
3.1. Propiedades del aceite de aguacate.....	21
3.2. Efecto hipercolesterolemico.....	22
3.3. La grasa dietética y la Diabetes Mellitus.....	22
II. Antecedentes específicos.....	23
III. Hipótesis.....	25
IV. Objetivos.....	25
V. Material y métodos.....	26
1. Animales.....	26
2. Protocolo experimental y preparación del tejido.....	27
VI. Resultados.....	30
1. Peso de las ratas y valores de glucosa sanguínea.....	30
2. Curvas dosis respuesta a fenilefrina en arteria aorta.....	30
VII. Discusión.....	39
VIII. Conclusiones.....	42
IX. Bibliografía.....	43

ABREVIATURAS.

AA. Ácido araquidónico.

Ach. Acetilcolina.

AGE. Ácido graso esencial.

AGM. Ácido graso monoinsaturado.

AGP. Ácido graso poliinsaturado.

AGS. Ácido graso saturado.

AINE. Analgésico inflamatorio no esteroideo.

AMP_C. Adenosín monofosfato cíclico

ATP. Trifosfato de adenosina.

AUC. Área bajo la curva.

BH₄. Tetrahidrobiopterina.

CMLV. Células del músculo liso vascular.

CO₂. Bióxido de carbono.

COX-1. Ciclooxygenasa 1.

COX-2. Ciclooxygenasa 2.

DM. Diabetes Mellitus.

DMNID. Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente.

ECA. Enzima Convertidora de Angiotensina.

ECV. Enfermedad cardiovascular.

EDRF. Factor relajante derivado del endotelio.

ET. Endotelina.

ET-1. Endotelina 1.

ET-2 .Endotelina 2.

ET-3. Endotelina 3.

ET_A. Endotelina subtipo A.

ET_B. Endotelina subtipo B.

FAD. flavín adenín dinucleótido.

FHDE. Factor hiperpolarizante derivado del endotelio.

FMN. Flavín mononucleótido.

GLP-1. Glucagon-like peptide-1. Hormona con carácter de incretina.

GMPC. Guanidin monofosfato cíclico.

HDL. Lípidos de alta densidad.

i NOS. Oxido nítrico sintasa inducible.

LDL. Lípidos de baja densidad.

L-NAME. N-(G)-nitro-L- arginine methyl ester.

MLV. musculo liso vascular.

eNOS. Oxido nítrico sintasa endotelial.

nNOS. Oxido nítrico sintasa neuronal.

NADPH. Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato.

NO. Oxido nítrico.

NOS. Oxido nítrico sintasa.

OMS. Organización Mundial de la Salud.

PD₂. Logaritmo negativo de la concentración del fármaco requerido para producir 50% de la respuesta máxima.

PG. Prostaglandina.

PGE₂. Prostaglandina E2.

PGF₁. Prostaglandina F1.

PGG. Prostaglandina G.

PGH. Prostaglandina H.

PGH₂. Prostaglandina H2.

PGI₁. Prostaglandina I1.

PGI₂. Prostaglandinal2.

RD. Rata diabética.

SRA. Sistema Renina Angiotensina.

TG. Triglicéridos.

TXA₂. Tromboxano A₂.

RESUMEN.

La diabetes mellitas (DM) es una de las principales enfermedades crónico-degenerativas que representa un grave problema de salud pública en crecimiento. La DM afecta diversos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos. Por ello, el endotelio vascular se ve implicado en las afecciones ocasionadas por la DM, y algunas de estas alteraciones pueden estar relacionadas con la función endotelial. En la DM, se ha reportado que la función endotelial se encuentra afectada por una serie de cambios en la expresión de sustancias vasodilatadoras así como vasoconstrictoras. Los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) son aquellos ácidos grasos de cadena carbonada par que poseen una sola insaturación en su estructura, Se ha observado que estos ácidos ayudan a mejorar favorablemente ciertas enfermedades cardiovasculares entre ellas la aterosclerosis. Se sabe que el aceite de aguacate contiene cerca del 60% de AGM y una baja cantidad de ácidos grasos saturados (AGS). El principal ácido es el oleico, seguido del ácido palmítico y linoléico. Al saber que estos AGM ayudan de manera gradual a disminuir factores que conllevan a enfermedades vasculares, se planteó la hipótesis de que el aceite de aguacate puede modular la respuesta contráctil afectada por el deterioro vascular que ocurre durante la diabetes mellitus experimental en la aorta de ratas wistar. Se emplearon 16 ratas macho Wistar (6-7 semanas de edad), con un peso de 300-370 g. Se dividieron en 2 grupos: el primer grupo conformado por ratas a las que se les indujo diabetes (estreptozotocina, 55 mg/kg) el segundo grupo formado por las ratas control (sin tratamiento alguno). Estos grupos, a su vez, se dividieron en 2 subgrupos. De las 8 ratas a las que se les indujo diabetes, 4 de ellas no recibieron tratamiento alguno, y las otras 4 restantes, se trataron con aceite de aguacate, con una dosis de 0.2 ml, cada 24 horas, vía subcutánea (s.c.) durante 7 días. De las 8 ratas a las que no se les realizó manipulación alguna (grupo control), 4 de ellas no recibieron ningún tratamiento, las 4 restantes, recibieron aceite de aguacate cada, 24 horas, vía s.c. durante 7 días. Posterior a esto se extrajo la aorta de cada animal, y esta se cortó en pequeños segmentos que fueron montados en un equipo para órgano aislado. A la mitad de los anillos se les removió el endotelio y posteriormente fueron estimulados con fenilefrina, y se observaron los efectos provocados por los antagonistas L-NAME e indometacina.

Con los resultados obtenidos podemos concluir que ratas normales, el aceite de aguacate produjo una disminución en la contractilidad a la fenilefrina tanto en presencia como en ausencia del endotelio y en las ratas con un proceso de diabetes mellitus corto, el aceite de aguacate produjo una mejoría de la función endotelial.

I.- INTRODUCCIÓN

1.- VASOS SANGUÍNEOS

Los vasos sanguíneos se pueden agrupar en cuatro tipos: arterias, arteriolas, capilares y venas⁶⁶. Los vasos sanguíneos que transportan sangre del corazón a las arteriolas se constituyen por tres cubiertas: la túnica adventicia o cubierta externa, túnica media o cubierta media y la túnica íntima o cubierta interna¹².

La íntima está formada por una capa interna de células epiteliales planas altamente especializadas y multifuncionales a las que se les denomina endotelio. Este descansa sobre una lámina basal, por debajo de la cual hay una delgada capa de tejido fibrocolágeno de sostén que contiene células contráctiles con algunas características de músculo liso, pero que también pueden sintetizar colágeno y elastina y tienen propiedades fagocitarias.

La media es la capa intermedia del vaso sanguíneo y está formada predominantemente por el músculo liso reforzado por capas organizadas de tejido elástico que forman la lámina elástica. La media es particularmente prominente en las arterias, siendo relativamente indistinta en las venas y virtualmente inexistentes en los vasos muy pequeños.

La adventicia es la capa externa de los vasos sanguíneos. Está compuesta mayoritariamente por colágeno, pero también hay células musculares lisas, particularmente en las venas. La adventicia es frecuentemente la capa más prominente de las paredes de las venas.

1.1. Las arterias

Las arterias son los vasos de distribución primarios y pueden subdividirse en dos grupos:

a) Arterias elásticas: en humanos son grandes vasos de 1 a 2 cm de diámetro. Incluyen la arteria aorta y la pulmonar junto con sus ramas principales. Las paredes de estas

arterias son muy distensibles porque su túnica media posee una elevada proporción de elastina (hasta un 40% comparado con el 10% de una arteria muscular).

b) Arterias musculares: su tamaño oscila desde 1mm hasta 1cm de diámetro. La túnica media de la arteria muscular contiene una mayor proporción de musculo liso que las arterias elásticas y su grosor es también mayor, comparado con el diámetro de la luz. Esto confiere una gran resistencia frente al colapso que podría producirse en ángulos cerrados, como en las articulaciones. La principal función de estos vasos es la distribución eficiente de la sangre hasta los diferentes lechos musculares. Como las arterias cerebrales, las poplíteas (en piernas) y las braquiales (en antebrazo).⁶⁶

1.2. El endotelio

El endotelio se define como un órgano ubicuo, tromboresistente, antiadhesivo, con función anticoagulante y reguladora de la presión y flujo sanguíneo.⁶⁸ Es la estructura más importante en la interfase sangre-pared vascular, por su participación en la regulación de las funciones de la pared vascular bajo condiciones fisiológicas y patológicas. Es el órgano endocrino más grande del organismo, produce sustancias fundamentales para regular el tono vascular, la agregación plaquetaria así como la coagulación y la fibrinólisis de la sangre.

El endotelio se halla dispuesto de tal manera que forma una monocapa que recubre la superficie interna tanto de las arterias, las venas, los vasos linfáticos, las cavidades y las válvulas cardiacas, como de los cuerpos cavernosos del pene y el clítoris, la cámara anterior del ojo, el pleura, el pulmón y la cavidad pericardia, entre otros.⁵⁵

1.3. Funciones del endotelio vascular

El endotelio contribuye a la homeostasis vascular regulando la interacción que existe entre las células de la pared vascular y el lumen⁸⁵. Al endotelio se le atribuye la función de barrera permeable, altamente selectiva y desempeña un papel determinante en el registro de cambios en la sangre y, de esa manera, mantiene la homeostasis

cardiovascular.⁵⁵ Una gran cantidad de nutrientes, incluyendo algunos ácidos grasos como el ácido linoléico, alteran la integridad endotelial.

El endotelio tiene características *sui generis* tales como la de producir autacoides con efecto antagónico, involucrados en el control del tono y homeostasis vascular, además ejerce influencia reguladoras sobre la remodelación vascular, la fibrinólisis, la adhesión al endotelio de plaquetas activadas y leucocitos y procesos inflamatorios⁷⁶. En este sentido, el endotelio mantiene el tono vascular a través del equilibrio entre sustancias vasodilatadoras como el óxido nítrico (NO), la prostaciclina (PGI₂) y el factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDHF) y sustancias vasoconstrictoras como la angiotensina II, la endotelina, el anión superóxido y el tromboxano A₂. Cuando este equilibrio se rompe, por estrés oxidativo fundamentalmente, la balanza se inclina hacia una vasodilatación disminuida.⁹

1.4. Factores relajantes endoteliales

La estimulación de las células endoteliales por el roce generado por la circulación sanguínea (shear stress) o por sustancias (neurotransmisores, hormonas, etc.), causa liberación de compuestos que inducen relajación del músculo liso vascular contiguo.^{27,68,82} La liberación de dichos compuestos es en general dependiente del incremento en la concentración intracelular de calcio libre y los principales factores relajantes, hasta ahora identificados, son: el NO, el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (FHDE) y la prostaciclina (PGI₂).⁵⁰

1.5. El óxido nítrico

Furchgott (1984) obtuvo evidencia experimental de la existencia de un factor de naturaleza química desconocida de origen endotelial, que producía la relajación del músculo liso vascular ante la administración de acetilcolina (ACh; Fig. 1). A esta sustancia enigmática se le denominó, provisoriamente, “factor relajante derivado del endotelio vascular” (Endothelium-Derived Relaxing Factor; EDRF). Louis Ignarro (1984) reportó que el EDRF era capaz de relajar los vasos sanguíneos e identificó al EDRF

como una molécula, mediante el análisis espectral de la hemoglobina, expuso la hemoglobina al EDRF y registro la longitud de onda observada, después colocó nuevamente la hemoglobina pero ante el NO, observando la misma secuencia en ambos casos, concluyendo así que el EDRF era el NO.⁶²

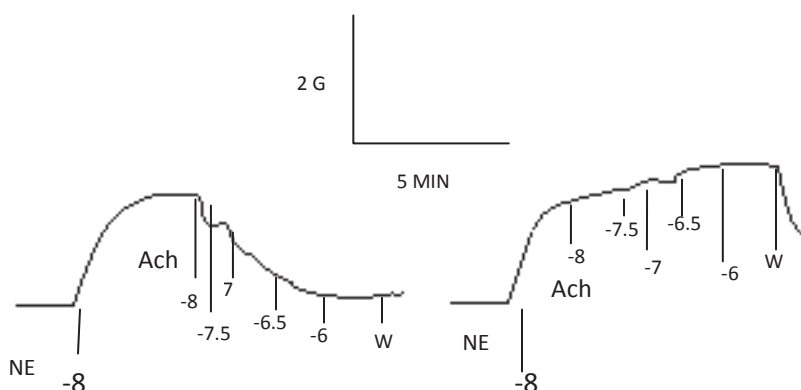


Figura 1. Experimentos que indican la existencia de un factor endotelial responsable de la relajación vascular y que es liberado por acción de la acetilcolina. Los trazados corresponden a la tensión desarrollada por un trozo aislado de arteria aorta en presencia de norepinefrina (NE). En el trazado de la izquierda el endotelio del trozo de aorta se mantuvo indemne, a la derecha dicho endotelio fue removido previamente. La acetilcolina (Ach) provoca una disminución de la tensión sólo en el segmento con el endotelio intacto. Esta acción es dosis dependiente. W: lavado. (Modificado de Furchgott, 1984).⁶⁸

1.5.1. Síntesis de NO

El NO se produce a partir del grupo guanidino de la L-arginina, a través de una reacción catalizada por un grupo de enzimas, las NO sintasas (NOS). Estas enzimas requieren de múltiples cofactores para su actividad, entre los que se incluyen el oxígeno molecular, la tetrahidrobiopterina (BH₄), el grupo hemo, el NADPH, el FAD, el FMN y la calmodulina. (Figura 2)

En el humano se han identificado tres isoformas (nNOS, iNOS y eNOS), codificadas por genes diferentes, que guardan una similitud relativamente escasa en cuanto a su estructura primaria (50-60% de identidad) pero están muy conservadas entre especies (tabla 1). La nNOS y la eNOS están expresadas constitutivamente; sin embargo, la iNOS, en la gran mayoría de los casos, requiere la presencia de estímulos extracelulares específicos para su expresión y al contrario que las otras dos isoformas,

no necesita un aumento de los niveles intracelulares de Ca^{2+} por encima de los de reposo para ser biológicamente activa.⁴³

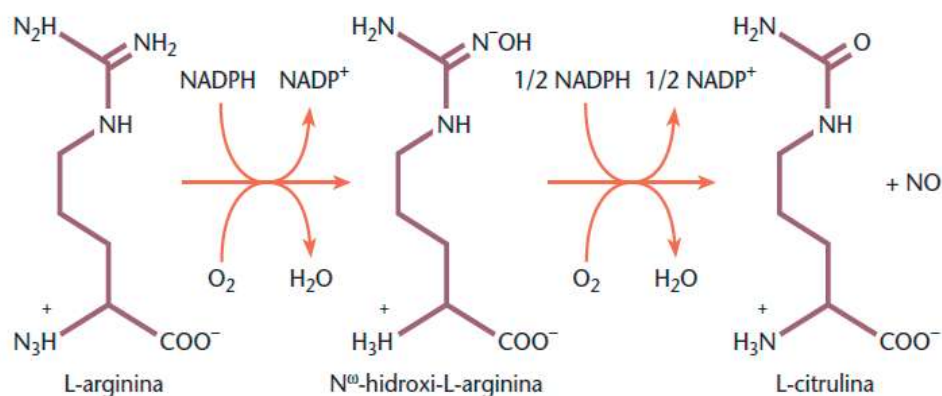


Figura 2. Reacción de la NO sintasa, que produce óxido nítrico y citrulina a partir de arginina. Tomado de

Tabla 1. Clasificación de las NO sintasas y principales formas de regulación.

Isoforma	Expresión tisular	Regulación	Estímulo primordial
nNOS (neuronal)	Constitutiva	Transcripcional y postraducciona	Ca^{2+} /Calmodulina
iNOS (inducible)	Inducible	Transcripcional	Citocinas/Lipopolisacárido
eNOS (endotelial)	Constitutiva	Transcripcional y postraducciona	Ca^{2+} /Calmodulina (puede ser independiente de Ca^{2+})

La síntesis de NO en el endotelio tiene lugar a través de la eNOS constitutiva y es un proceso dependiente del aumento de Ca^{2+} intracelular provocado por agonistas específicos, como la bradicinina, la histamina o la acetilcolina.

La síntesis de óxido nítrico puede ser regulada por glucocorticoides y agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINES) que reducen la producción de este gas, así como por los propios niveles de NO a través de mecanismos de retroalimentación negativa⁵⁶.

1.5.2. Función del NO en el tejido vascular.

Las investigaciones realizadas por Palmer y col. (1987) demostraron la acción del NO como posible regulador de la presión arterial, por su efecto vasorrelajante directo sobre los vasos sanguíneos.⁶⁵ Además, Rubany y col.,⁷² comprobaron que el principal factor responsable de la liberación del NO por las células endoteliales es el roce producido por la sangre sobre esta capa de células y señalaron por primera vez "que el aumento de la velocidad o pulso del flujo sanguíneo" produce vasorrelajación dependiente de la liberación de NO por las células endoteliales.⁷² Al NO se le atribuyen efectos inhibidores sobre la proliferación y migración de células musculares lisas, la adhesión de leucocitos al endotelio y la agregación paquetaria. El endotelio vascular regula la capacidad de los vasos sanguíneos para alterar su arquitectura en respuesta a los cambios hemodinámicos. Numerosos trabajos demuestran que el NO derivado del endotelio es el que contribuye más a esta remodelación, participando de una manera crítica como un regulador negativo de la proliferación del músculo liso vascular en respuesta al estímulo.⁷³

El efector del NO es la guanilato ciclasa soluble, que al ser activada produce un aumento en la concentración de guanilil monofosfato cíclico (GMPc), en las células del músculo liso vascular (CMLV). Una vez generado el GMPc en las CMLV, éste activa a la proteína cinasa G (PKG; dependiente de GMPc) que, entre otras funciones, regula la entrada de Ca^{2+} al interior de la célula, mediada por canales de K^+ , interfiere con la liberación de Ca^{2+} desde los depósitos del retículo endoplásmico y afecta a la contractilidad por efecto directo en el aparato de actinmiosina. El subsiguiente descenso de la concentración intracelular de Ca^{2+} conduce al desacoplamiento de los filamentos contráctiles de actina y miosina y a la relajación de la pared vascular.⁴³

En las arterias grandes prevalece la acción del NO, pero ante situaciones en que está inhibida su producción, el FHDE puede suplirlo en su función vasodilatadora⁴⁷. Lo anterior puede ser importante en la regulación del tono vascular en situaciones patológicas donde la producción y/o actividad del NO se encuentran reducidas.

1.6. Factor hiperpolarizante derivado del endotelio

El factor hiperpolarizante derivado del endotelio (FHDE) es una molécula que incrementa la permeabilidad al potasio, aumentando el umbral y por lo tanto disminuyendo la capacidad de contracción del músculo liso vascular.³² La hiperpolarización de las células del músculo liso inducidas por el FHDE está mediada por la salida de potasio. No se ha establecido en forma definida cuales son los tipos de canales de K^+ involucrados aunque parecen ser dependientes calcio en lugar de ATP.⁷⁸ La liberación de FHDE a semejanza de la de NO requiere de un aumento de la concentración de calcio intracelular en las células endoteliales.

La contribución de la hiperpolarización en la vasodilatación dependiente de endotelio varía en función del tamaño de las arterias y es esencialmente predominante en los vasos de resistencia^{60,83}. Esto puede ser importante en la regulación del tono vascular en situaciones patológicas en que la producción y/o actividad del NO se encuentran reducidas.

1.7. Prostaciclina

La célula endotelial metaboliza el ácido araquidónico en prostaciclina y prostaglandina E_2 y en pequeñas cantidades de tromboxano A_2 . La prostaciclina fue descubierta en 1976 por el grupo de Moncada. Además de la función ya mencionada es antiagregante plaquetario por medio de la activación de la adenilato ciclasa, para producir AMPc intracelular.⁸²

La secreción ocurre espontáneamente y en respuesta a fuerzas de corte, ATP, bradicinina, histamina (receptor H_1), trombina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas, serotonina y nucleótidos de adenosina⁶¹. La producción se inicia por la enzima fosfolipasa A_2 que actúa sobre la membrana fosfolipídica y libera ácido araquidónico que bajo la influencia de la enzima ciclooxigenasa (COX) produce endoperóxidos de prostaglandinas y mediante la prostaciclina sintetasa se obtienen prostaciclina.

Los principales precursores del ácido araquidónico son los eicosanoides que se obtienen de la carne animal y de la elongación del ácido linoléico de la carne animal y de la elongación del ácido linoléico en vegetales. Tanto el ácido araquidónico como los eicosanoides son sustratos de la enzima COX y producen prostaglandina H_2 con acción semejante a la prostaciclina para prevenir la agregación plaquetaria y tromboxano A_3 , menos activo que el tromboxano A_2 , en causar agregación plaquetaria. Estas observaciones han hecho que se plantee el consumo de aceite de pescado como protector en ciertas patologías como la enfermedad cardíaca, hay varios trabajos que demuestran que la ingesta de este tipo de grasas disminuye el riesgo de ataque cardíacos⁴⁵.

La función de la prostaciclina es local causando relajación del músculo subyacente y previniendo la agregación plaquetaria. Además aumenta la actividad de enzimas que metabolizan los ésteres de colesterol en la célula muscular lisa (CML), inhibe la acumulación de ésteres de colesterol por los macrófagos y previene la liberación de factores de crecimiento que causan engrosamiento de la pared vascular. La capacidad del endotelio para generar prostaciclina disminuye con la edad, en diabetes mellitus y en aterosclerosis.²¹

1.7.1 Factores contráctiles derivados del endotelio

Las células endoteliales también participan en la contracción vascular.⁵² Los factores contráctiles derivados de endotelio incluyen a prostanoïdes vasoconstrictores como el tromboxano A_2 y la PGH_2 , el anión superóxido (que actúa inactivando al NO), los endoperóxidos, la angiotensina II (Ang II) y el péptido de 21 aminoácidos endotelina (ET).

Los estímulos que inducen la contracción dependiente del endotelio son: la hipoxia, la presión, la distensión parietal y la presencia de varios mediadores neurohumorales. La enzima ciclooxygenasa (COX) también produce vasoconstrictores derivados de endotelio. El ácido araquidónico, la acetilcolina, la histamina y la serotonina pueden producir contracciones dependientes de endotelio que son mediadas por tromboxano A_2 o prostaglandina H_2 .⁵²

En el endotelio también se hace presente la actividad del sistema renina angiotensina (SRA). En este sentido, la enzima convertidora de angiotensina (ECA), se expresa sobre la membrana celular endotelial y la Ang II puede activar a sus receptores en el músculo liso y en el endotelio. En el endotelio la Ang II estimula la producción de ET y otros mediadores tales como el factor activador de plasminógeno.⁸³

1.7.2. Prostaglandinas

La familia de las COX_s comprende hasta ahora tres enzimas, dos de ellas denominadas COX-1 y COX-2, con un 60 % de identidad entre ellas, capaz de catalizar la conversión del ácido araquidónico en precursores de las diferentes prostaglandinas⁴³. Y posterior a la identificación de COX-1 y COX-2, Chandrasekharan y col.¹⁴ reportaron la existencia de una nueva isoforma de COX que identificaron y caracterizaron en tejido nervioso de perro, a la que en principio llamaron COX-3, que también se identificó en tejido de rata y de humano (Snipes y col., 2005; Qin y col., 2005).

Se ha demostrado que las isoformas COX-1 y COX-2^{34,89} tienen un peso molecular semejante (71 kDa; Picot y col., 1994; Chen y col., 1987) con alrededor de 600 aminoácidos. La vía de las ciclooxigenasa, iniciada por dos enzimas diferentes, la COX-1 expresada constitutivamente y la enzima inducible COX 2, da lugar a la generación de prostaglandinas (fig. 3).

La COX-1 es una enzima constitutiva encargada de la síntesis de prostaglandinas implicadas en la homeostasis general y, en consecuencia, está expresada en la mayoría de los tejidos del organismo. Los valores de esta enzima se mantienen constantes dentro de una misma población celular, aunque puede variar entre poblaciones celulares distintas.

La COX-2 es una isoforma indetectable en forma basal en la mayoría de los tejidos y se encarga de producir prostanoïdes en los lugares inflamados, además también se han encontrado niveles altos de esta isoenzima en la próstata, el timo del recién nacido y en el cerebro³³.

Se ha mostrado un gran interés en la enzima COX-2 debido a que se induce por diversos estímulos inflamatorios y está ausente en la mayoría de los tejidos en condiciones normales de reposo. En contraste la COX-1, se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos.⁶⁹ Algunos datos sugieren que la COX-3, a diferencia de las otras dos isoformas, media la síntesis de prostanoides antiinflamatorios en fases avanzadas del proceso inflamatorio.³³

Las prostaglandinas se dividen en series basadas en sus características estructurales, codificadas por una letra (PGD, PGE, PGF, PGG y PGH y un subíndice que indica el número de dobles enlaces en el compuesto. Las plaquetas contienen la enzima tromboxano sintetasa, y de aquí que el TxA_2 sea el producto más importante en estas células. El TxA_2 es un potente agente agregador de plaquetas y vasoconstrictor, por sí mismo es inestable y se convierte rápidamente en su forma inactiva TxB_2 . El endotelio vascular carece de la tromboxano sintetasa pero posee prostaciclina sintetasa, que da lugar a la formación de prostaciclina (PGI_2) y su producto final estable PGF_1 .

La PGE_2 y la PGI_2 generadas localmente modulan el tono vascular. La PGI_2 , que es el principal metabolito del ácido araquidónico liberado del endotelio vascular, proviene predominantemente de COX-2 en el ser humano¹⁰ y está regulada por fuerzas de rozamiento y por autacoides vasoconstrictores y vasodilatadores. La PGI_2 limita específicamente la proliferación de músculo liso inducida por TxA_2 en las lesiones vasculares, lo cual sugiere que los prostanoides en cuestión participan en la remodelación del tono vascular.⁵¹

Las prostaglandinas y los leucotrienos se sintetizan en respuesta a estímulos diversos que desencadenan reacciones inflamatorias y/o inmunitarias. Estos eicosanoides contribuyen de manera importante a la inflamación y la inmunidad.^{75,79} La biosíntesis de prostanoides aumenta considerablemente en tejidos inflamados⁶⁴.

1.7.3. Inhibidores de las ciclooxygenasas

En 1971, Vane⁸² descubrió que la actividad de los analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) está mediada por su capacidad de inhibir la actividad de la COX, lo que se traduce en una disminución de la síntesis de PG. La inhibición de la

biosíntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico mediante el bloqueo de las COX_s es un mecanismo común, aunque no exclusivo, de los AINEs, responsable de su utilidad terapéutica, analgésica, antiinflamatoria, antipirética y antitrombótica.

Durante el proceso inflamatorio, tanto los niveles de ARNm de COX-1, como de los del propio enzima y su actividad no cambian significativamente, sin embargo los niveles de COX-2 sufren un drástico aumento, lo que se traduce en un incremento de la producción de PG. Este incremento se inhibe cuando se administran inhibidores selectivos de la COX-2, reduciéndose la inflamación.¹³ El papel de la COX-1 durante el proceso inflamatorio es contribuir a la resolución del mismo. La inducción de la COX-2 produce como resultado la síntesis de distintos mediadores proinflamatorios (fundamentalmente las PGE₂ y la PGI₂), que favorecen la vasodilatación prolongada y aumentan el flujo sanguíneo, potenciando, al mismo tiempo, la acción de sustancias como la bradicinina y serotonina, capaces de incrementar la permeabilidad vascular y activar las terminaciones nerviosas.⁴²

Se admite que PGE₂ y PGI₂ (prostaciclina) son capaces de relajar el músculo liso mientras que TxA₂, PGF_{2α} y, en algunos casos, también la PGE₂, son constrictores⁴³.

1.7.4. Mecanismo de la Inhibición de las COX

Los AINEs compiten con el ácido araquidónico, para acoplarse al sitio activo de la enzima. Se ha postulado que los AINEs bloquean la COX al unirse por enlaces de hidrógeno a la arginina de la posición 120. Para explicar la selectividad de los AINEs, parece crítica la presencia de un aminoácido clave en la posición 523 de estas enzimas, concretamente la isoleucina para COX-1 y la valina para COX-2, que deja una apertura en la pared del canal, que permite el acceso a un lugar de acoplamiento para muchas estructuras selectivas de COX-2, como las sulfonas o la sulfonamida. La indometacina un AINE derivado del ácido acético, se introdujo en clínica en 1963 para el tratamiento de la artritis reumatoide y procesos inflamatorios relacionados ¹³ es uno de los más potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas.

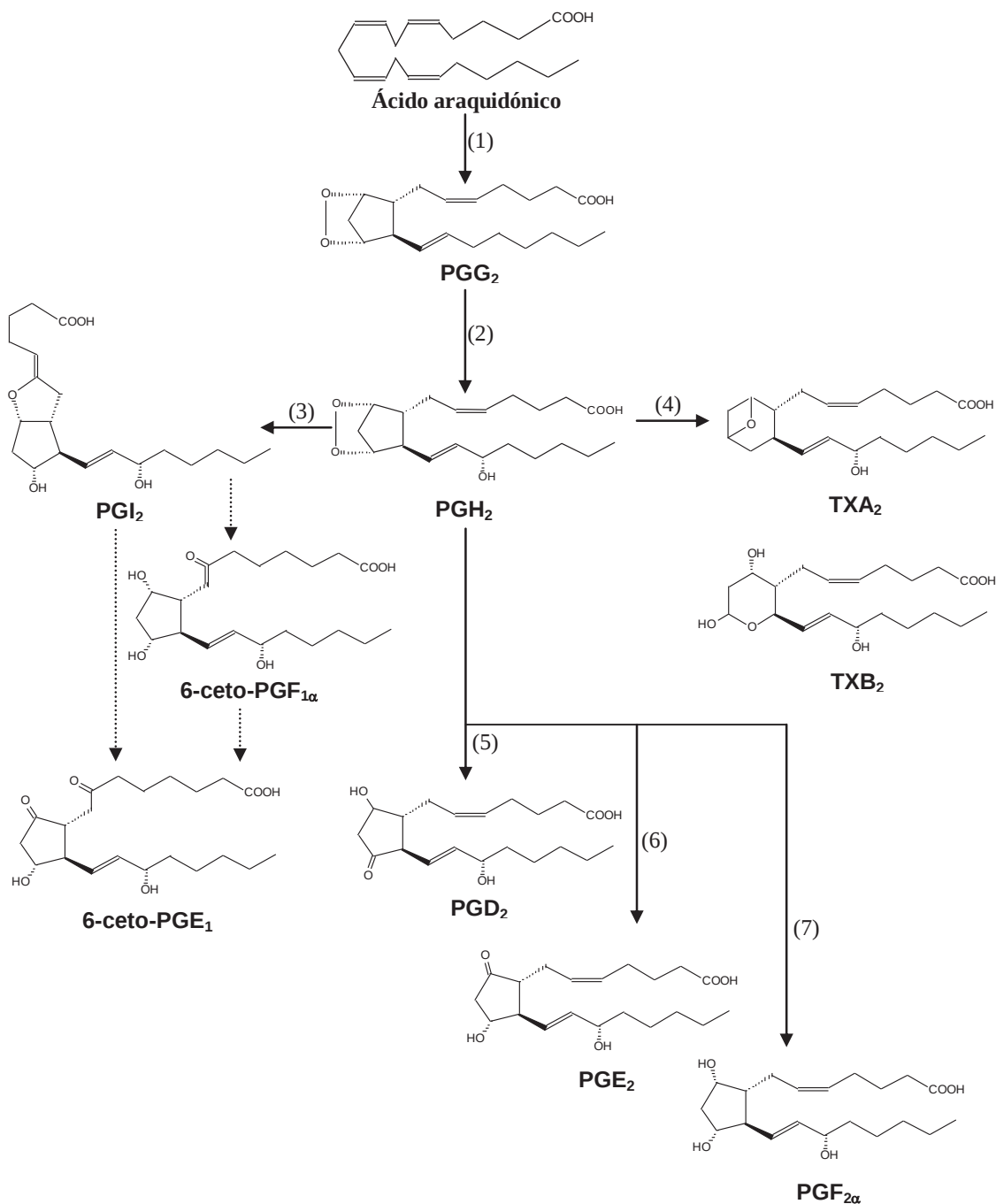


Figura 3. Biosíntesis de prostaglandinas. Abreviaturas: PG = prostaglandinas (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}), PGI₂ = prostaciclina, TXA = tromboxano. Nomenclatura enzimática: 1 = sintasa de PGG/H (ciclooxigenasa), 2 = sintasa de PGG/H (hidroperoxidasa), 3 = sintasa de prostaciclina, 4 = sintasa de tromboxano, 5 = sintasa de PGD (PGH-D isomerasa), 6 = sintasa de PGE (PGH-E isomerasa), 7 = sintasa de PGF (PGF reductasa). Las líneas punteadas representan procesos no enzimáticos. Tomado de Godínez (2002).⁴¹

1.7.5. Tromboxano

El tromboxano A_2 es un vasoconstrictor potente que *in vitro* contrae el músculo liso de los vasos. El tromboxano A_2 es producido por las plaquetas a partir de su precursor, el ácido araquidónico, en la vía de las ciclooxigenasas. El tromboxano A_2 promueve la agregación plaquetaria y la vasoconstricción.³⁸

2. DIABETES MELLITUS

2.1. Definición

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula la glucosa en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de la glucosa en la sangre) que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios, los riñones y los vasos sanguíneos.

La diabetes mellitus es una enfermedad que incapacita al organismo para metabolizar o usar eficazmente los carbohidratos, las proteínas y las grasas. Cuando comemos, los alimentos (especialmente los carbohidratos) se convierten en glucosa. Todas las células del cuerpo necesitan glucosa para vivir, pero la glucosa no puede penetrar en las células sin la intervención de la insulina. La glucosa circula a través de la corriente sanguínea para alimentar a cada célula del cuerpo. La presencia de glucosa estimula a las células β del páncreas para liberar insulina. Cuando la insulina se acopla a sus receptores en las células, la glucosa puede penetrar a través de sus membranas y utilizarse.¹⁵

2.2. Producción de Insulina.

Las células β fabrican insulina en etapas. La primera etapa es la producción de la proinsulina. La proinsulina es una molécula formada por una cadena proteínica de 81 aminoácidos, que es precursora de la insulina. Las células β procesan la proinsulina convirtiéndola en insulina por la sustracción enzimática del péptido C, que es una

estructura de 30 aminoácidos que conecta las cadenas A y B (de 21 y 30 aminoácidos, respectivamente). El péptido C no tiene ninguna función conocida. Sin embargo, se segrega en las mismas cantidades que la insulina y, de hecho, circula en la sangre más tiempo que la insulina, por lo que es un preciso marcador cuantitativo del funcionamiento de las células β . De esta manera, niveles normales de péptido C indican una secreción relativamente normal del páncreas. La insulina se almacena en las células β en gránulos secretorios, que se preparan para liberarla en la circulación sanguínea, en respuesta al estímulo de una concentración creciente de glucosa en sangre. Un páncreas funcionando normalmente puede fabricar y liberar diariamente de 40 a 50 unidades de insulina. Además, tiene varias cientos unidades almacenadas y disponibles para ser segregadas cuando se necesitan.¹⁵

2.3. La función de la insulina sobre la glucosa

La insulina es la principal hormona que regula los niveles de glucosa en sangre. Su función es controlar la velocidad a la que la glucosa se consume en las células del músculo, tejido graso e hígado. Cada uno de estos tipos de células del cuerpo usa la glucosa de una manera diferente. Este uso está determinado por el sistema enzimático específico de cada una. El tratamiento de la diabetes se basa en la interacción de la insulina y otras hormonas con los procesos celulares de estos tres tipos de células del cuerpo (figura 4).¹⁵

El cerebro usa cerca del 25% de la glucosa total de cuerpo. Sin embargo, debido a que el cerebro almacena muy poca glucosa, siempre tiene que haber un abastecimiento constante y controlado de glucosa disponible en la corriente sanguínea. En este sentido, es de vital importancia que el nivel de glucosa en sangre se mantenga en un rango de 60 a 120 mg/dl, con el fin de prevenir una falta de suministro al sistema nervioso.¹⁵

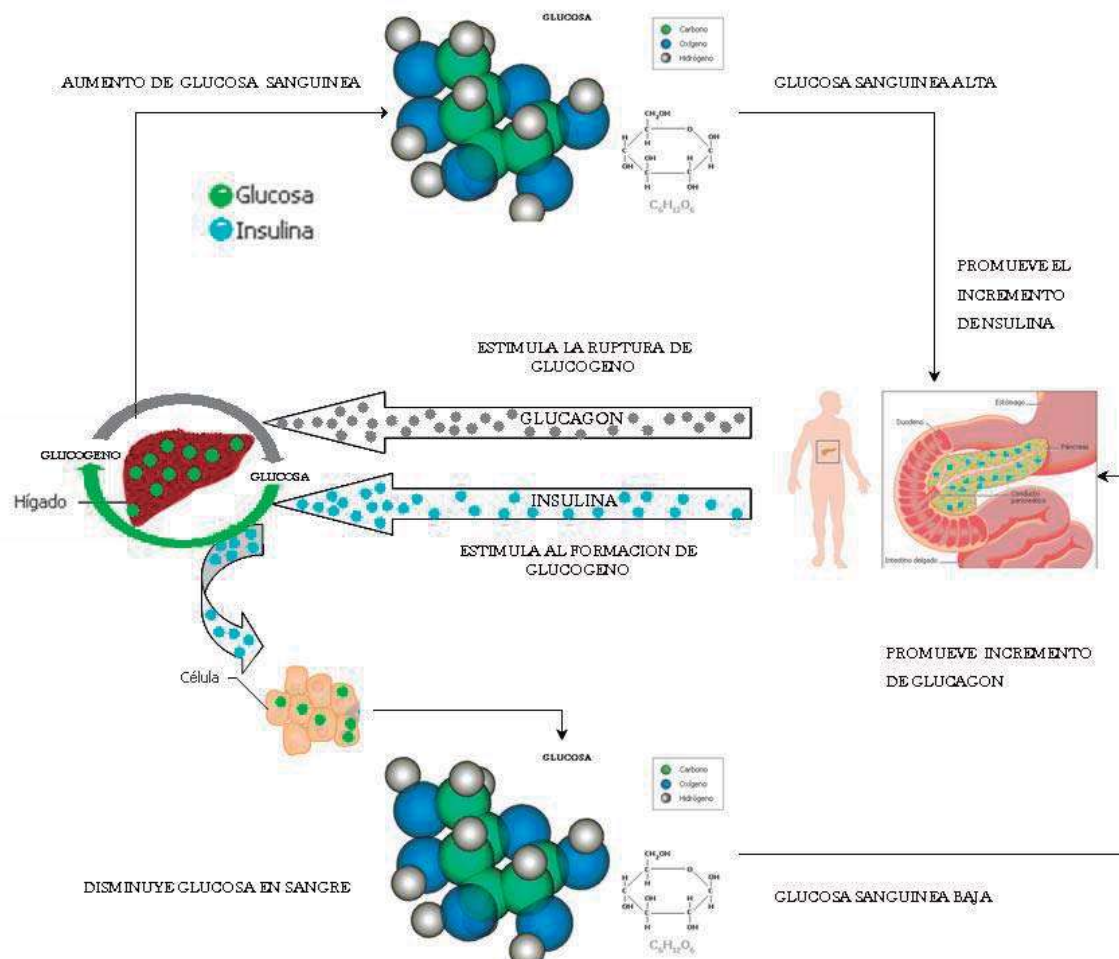


Figura 4. Circuito de producción de la liberación de insulina por el páncreas y la asociación de las concentraciones de esta hormona con la producción de glucagón. Modificado de Diabetes ATLAS (Federación Internacional de Diabetes, 2010).¹

La hiperglucemia crónica a largo plazo está asociada con daño, disfunción o falla de varios órganos especialmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos. Las alteraciones del sistema inmune durante esta enfermedad favorecen infecciones mucocutáneas (bacterianas y micóticas) acompañadas por picazón o prurito⁴⁶, y al mismo tiempo presenta un aumento del riesgo de complicaciones por enfermedad vascular.⁷

2.4 Diabetes mellitus tipo I

Este tipo de diabetes aparece con frecuencia durante la niñez y la adolescencia. Presenta síntomas de sed y apetito excesivos, necesidad frecuente de orinar y mucho cansancio. El páncreas de los individuos que padecen diabetes del tipo I no produce insulina o lo hacen de manera escasa. Las personas que padecen este tipo de diabetes deben inyectarse insulina cada día. La cantidad de insulina que se debe inyectar es específica de cada caso, dependiendo de la alimentación, el ejercicio físico, el estrés, las infecciones, y diversos factores que influyen en el funcionamiento del cuerpo de cada persona.²⁰

La diabetes tipo 1 afecta al sistema inmunológico. Puede ocurrir a cualquier edad pero se produce con más frecuencia en niños y adolescentes. También es mucho más grave que la de tipo 2. Las causas de la diabetes tipo 1 no se conocen completamente. En la mayoría de los casos, el sistema inmunológico del cuerpo ataca y destruye la parte del páncreas que produce la insulina. Los antecedentes familiares tienen cierta influencia pero sólo en el 10 ó 15 por ciento de la gente que sufre de diabetes tipo 1. También existe mayor riesgo de desarrollar la diabetes tipo 1 si se tiene otra condición auto-inmune relacionada a las hormonas, tal como el hipotiroidismo, tiroiditis de Hashimoto o la enfermedad de Addison.⁸⁶

2.5. Diabetes mellitus tipo II

Este tipo de diabetes es el más común, aproximadamente el 90% de las personas que padecen diabetes tienen la del tipo II. Quienes padecen este tipo de diabetes no necesitan inyectarse insulina, pues su cuerpo la produce, pero lo que ocurre es que no la utiliza de forma correcta. Hay una resistencia por parte de las células hacia la insulina, esta resistencia es producto de la obesidad y de una tendencia heredada.²⁰

En este tipo de diabetes se producen trastornos metabólicos caracterizados por una elevación inapropiada de la glucosa en sangre (hiperglucemia) que da lugar a complicaciones crónicas por afectación de grandes y pequeños vasos y nervios. La alteración subyacente en esta enfermedad es la dificultad para la acción de la insulina

(como una pérdida de sensibilidad de los tejidos a esta hormona) que denominamos insulinoresistencia y una secreción inadecuada de insulina por las células encargadas de su producción en el páncreas. Además de aumentar la concentración de glucosa la acción deficiente de la insulina se traduce frecuentemente en elevación de los niveles de colesterol y/o triglicéridos. La mayor parte de los casos de diabetes mellitus tipo 2 se producen en el contexto de lo que se llama síndrome metabólico. En este síndrome se asocian diabetes, hipertensión arterial, aumento de los niveles de colesterol, triglicéridos y/o ácido úrico y sobrepeso, probablemente debidos también a la insulinoresistencia. El síndrome metabólico eleva notablemente el riesgo cardiovascular y es una causa de mortalidad en los países desarrollados.¹⁹

La prevalencia total de la DM tipo 2 se estima en un 6% y aumenta de forma significativa en relación con la edad. Alcanza cifras entre el 10-15% en la población mayor de 65 años y hasta el 20% si consideramos solo a los mayores de 80 años⁶⁴.

La causa principal de la diabetes tipo 2 está relacionada con el tipo de vida. Es decir, la mala alimentación que lleva a la obesidad, la falta de ejercicio y la vida sedentaria. La nutrición, el ejercicio y el tratamiento médico son los pilares básicos en los que se debe apoyarse el tratamiento de esta enfermedad crónica⁶⁴.

2.6 Diabetes en México.

A pesar de que la diabetes puede ser diagnosticada fácilmente y de que existen cada vez más tratamientos disponibles para ayudar a las personas con diabetes a mantener bajo control sus niveles de glucosa, las consecuencias del control inadecuado y la mortalidad por diabetes continúan en aumento. En México, la diabetes es la primera causa de ceguera adquirida en edad productiva; también es la primera causa de amputaciones no traumáticas de miembros inferiores y de insuficiencia renal crónica. Aunque ésta es una de las pocas enfermedades que afectan más al sexo femenino, en promedio los hombres con diabetes mueren a una edad más temprana que las mujeres (67 vs. 70 años, respectivamente) y sólo 20% de los hombres que han desarrollado este padecimiento viven más de 75 años, contra 26% en el caso las mujeres.³⁰

Se estima que en los próximos años México podría ocupar el 7° lugar de países con diabetes con casi 12 millones de habitantes. De tal manera que la intolerancia a la glucosa podría afectar a 4 millones de mexicanos, así mismo, la obesidad a un 65% de la población. Aunque también la diabetes tipo 2 se presentaría en niños con más de 30% con sobrepeso y 16% con obesidad.³⁰

2.7 Disfunción endotelial en la diabetes

Si las condiciones a las que son sometidas las células endoteliales se modifican, por hiperlipemia, estrés oxidativo, hipertensión, diabetes mellitus o tóxicos ambientales, estas células varían su fenotipo hacia un estado proinflamatorio, lo cual implica una menor disponibilidad local de NO, mayor síntesis de moléculas de adhesión que atraerán leucocitos y plaquetas, incremento de permeabilidad y síntesis de citocinas, que favorecerán la proliferación y migración de células musculares lisa y fibroblastos. Este conjunto de cambios reciben el nombre de disfunción endotelial¹⁷.

2.7.1. Regulación de la permeabilidad vascular

Numerosos nutrientes, incluyendo algunos ácidos grasos como el ácido linoléico, alteran la integridad endotelial.⁸⁰ En el mismo sentido, el aumento de niveles de NO puede incrementar la permeabilidad vascular inducida por el factor de crecimiento vascular endotelial (VGEF)⁵⁹ o el factor de necrosis tumoral α (TNF α).⁸⁸ Aunque existen otras moléculas que aumentan la permeabilidad vascular entre ellas la Ang II⁸⁷ o la interleucina 1B.⁵⁷

2.8 Efecto de la diabetes sobre las reactividades vasculares

En la diabetes mellitus existe un importante deterioro de la función endotelial que es responsable de las complicaciones vasculares (microangiopatía y macroangiopatía) que aparecen en estos pacientes. En distintos modelos experimentales de diabetes mellitus se ha observado una alteración de la relajación dependiente de endotelio. La

disfunción endotelial diabética cursa con una disminución de la producción de factores relajantes y un incremento de la producción de los factores vasoconstrictores. La producción de NO o su liberación endotelial disminuye en la diabetes, pero los efectos de este mediador en el músculo liso vascular (MLV) parece que no se modifican.

En pacientes con diabetes tipo 2 se ha observado una disminución de la respuesta vasodilatadora a Ach y una disminución de la respuesta a nitroglicerina. En la diabetes mellitus la producción de PGI_2 por las células endoteliales también disminuye y existe un incremento en la producción de prostanoïdes vasoconstrictores como el TXA_2 y su precursor inmediato la PGH_2 . Este incremento parece que podría relacionarse con una liberación mayor de AA y un metabolismo anormal de este ácido que cursa con incremento en la producción de radicales libres y aniones superóxido. En la diabetes tipo 2 probablemente existe también una inactivación mayor de NO por los radicales libres derivados de oxígeno. El déficit de NO contribuiría, por lo tanto a la reactividad vascular anormal que se observa en estos pacientes y también en ellos se ha sugerido que la disfunción endotelial mejoraría administrando agentes antioxidantes como la vitamina C.⁵³

Cuando no hay un exceso de glucosa en los tejidos, los AGE (productos finales de glicosilación avanzada) se originan a partir de una reacción no enzimática, formando una base de Schiff; estos AGE pueden favorecer la autooxidación de proteínas y pueden interaccionar con receptores específicos localizados en el endotelio, en el MLV y en los macrófagos, ocasionando a su vez liberación de citocinas y factores de crecimiento que causan daño vascular. A nivel experimental se ha comprobado que son capaces de inactivar el NO.

El aumento de la contracción vascular en la diabetes mellitus, se ha correlacionado también con un incremento en la producción de endotelina. Este péptido podría colaborar al daño vascular que acusan estos pacientes. Sus niveles circulantes aumentan en los pacientes diabéticos con diabetes tipo 1 y 2, y sus niveles urinarios también aumentan en pacientes diabéticos que acusan daño renal.⁵³

Algunos estudios muestran que en las fases iniciales de la diabetes experimental existe una llamativa hipocontractilidad vascular, dependiente de la presencia de endotelio, debido muy probablemente a una excesiva producción de óxido nítrico, espontánea o estimulada por otros agonistas, o bien a una hipersensibilidad del músculo liso vascular a los efectos de aquél.⁶

La diabetes disminuye la potencia contráctil de la ET-1 en la arteria renal. En los animales control la respuesta contráctil a la ET-1 está modulada por la liberación de NO endotelial y de un prostanoide vasoconstrictor de origen muscular. La diabetes modifica la participación de los factores que modulan dicha respuesta: se mantiene la producción del prostanoide vasoconstrictor muscular, no se evidencian cambios en la actividad moduladora del NO, pero aparece un predominio de un prostanoide vasodilatador endotelial regulando esta respuesta.³⁷

3 AGUACATE

El aguacate es el fruto del aguacatero (*Persea americana*), un árbol de la familia de las lauráceas, a la que pertenecen especies tan conocidas como el laurel (*Laurus nobilis*) o el alcanfontero (*Laurus camphora*)⁶⁷. El aguacate es uno de los frutos más nutritivos. La pulpa tiene una consistencia mantequillosa, parecida mucho a la mantequilla de leche de vaca y tiene un sabor suave parecido a la nuez. Esta fruta contiene una serie de vitaminas, ácidos grasos, aminoácidos y minerales que lo hacen sumamente saludable e incluso una buena opción para los problemas cardíacos (entre otros). Tiene diez vitaminas, entre las que se destacan la vitamina E, el ácido fólico y el glutatión. Asimismo, diez ácidos grasos de los cuales cinco son mono y poli-insaturados, destacándose los Omega-9, Omega-7, Omega-6 y Omega-3 y se ha sugerido que esta composición forma parte de la protección contra el cáncer. Además, el aguacate contiene β -sitosterol el cual previene la acumulación de colesterol¹¹.

El aguacate está compuesto por diez elementos minerales: calcio, cobre, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, potasio, selenio, sodio y zinc, todos ellos empleados para el buen funcionamiento del metabolismo celular y la circulación sanguínea. Todos estos minerales, en conjunto, al consumirse en la fruta de aguacate,

promueven una vida sana, vitalizan el sistema inmunológico, mejoran la visión, protegen a las células de los daños por estrés, previenen las enfermedades cancerígenas y hepáticas, mejoran la digestión de los alimentos y protegen el músculo cardíaco.¹¹

3.1. Propiedades del aceite de aguacate

El aceite de aguacate contiene una alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados (AGM), una baja cantidad de ácidos grasos saturados (AGS) y no contiene colesterol. Según Duester²⁵, cerca del 60% de los ácidos grasos son monoinsaturados, 20% poliinsaturados y el resto son saturados. El principal ácido graso en el aguacate es el oleico, seguido del ácido palmítico y linoléico. Cuando el fruto madura, disminuye el contenido de ácido palmítico (saturado) y aumenta el del ácido oleico (monoinsaturado).

Los AGM modifican favorablemente un número de factores de riesgo para las ECV, incluso los lípidos del plasma y lipoproteínas, los factores relacionados con la trombogénesis, la susceptibilidad oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la sensibilidad a la insulina. Los AGM disminuyen los niveles de colesterol LDL y colesterol total con respecto a los AGS que no los modifican; y en relación con las cantidades elevadas de carbohidratos, aumentan los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y disminuye los TG del plasma.⁴⁸

Los ácidos grasos de las familias n-3 y n-6, también conocidos como los ω -3 y ω -6 desempeñan una participación crítica en la estructura de las membranas celulares y actúan como precursores de los eicosanoides como las prostaglandinas, leucotrienos y lipoxinas que son compuestos altamente reactivos y que cumplen funciones diversas en el hombre; intervienen en la agregación plaquetaria, en los procesos inflamatorios y en el sistema inmunológico. Los ácidos linoléico, araquidónico, ambos n-6 y el ácido linolénico, este último n-3, son esenciales para el organismo y deben incluirse en la dieta.¹⁸

3.2. Efecto hipercolesterolémico.

Entre las dietas más empleadas para la prevención y tratamiento de la arteriosclerosis, la dieta rica en grasa monoinsaturada (ácido oleico) es la más benéfica para la población, desde el punto de vista del metabolismo hidrocarbonado y la presión arterial⁷⁴. Una serie de nuevos ensayos dietéticos indica que las dietas altas en grasa monoinsaturada disminuye el riesgo de ECV, en algunos casos, con mayor eficacia que las dietas estándar bajas en grasa recomendadas por la American Heart Association.³⁶ Las dietas enriquecidas en ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados omega 3 disminuyen la presión arterial, sin modificar la concentración de insulina plasmática en sujetos sanos⁵⁰.

Alvizouri Muños y colaboradores (2003) describieron que el aceite de aguacate proporcionó una protección parcial, pero muy importante en la aorta de conejos en contra de la aterosclerosis experimental.³ Carranza Jaime y colaboradores, estudiaron los efectos del aguacate sobre los niveles de lípidos séricos en pacientes con dislipidemias fenotipo II y IV, observando que la dieta rica en AGM (aguacate) produjo un descenso moderado de los triglicéridos mientras que una dieta baja en grasas, sin aguacate incrementaron los niveles.⁹

3.3. La grasa dietética y la diabetes mellitus

Un 10% de aumento en la ingesta de carbohidratos asociados con el consumo de cereales en el desayuno no tuvo efectos dañinos sobre el control glucémico o lipídico de la sangre, durante seis meses, en sujetos con DM tipo 2. así mismo se observó que un aumento de insulina en el plasma y la reducción de ácidos grasos libres asociados con una ingesta abundante en carbohidratos pueden disminuir la velocidad de progresión de la diabetes. Sin embargo, no queda claro si, a largo plazo, la reducción de insulina en el plasma y el aumento en ácidos grasos libres asociados con una ingesta alta de AGM presenta efectos dañinos sobre la progresión de la DM.⁸¹

Los beneficios en el control glucémico que se han atribuido a las dietas enriquecidas con AGM se explican, al menos en parte, por el hecho de que tales dietas aumentan la secreción de la hormona antidiabética GLP-1. La manipulación en la composición de los ácidos grasos dietéticos para elevar la proporción de AGM respecto a los AGS, puede ser una aproximación útil con la cual se desarrollaría la secreción de GLP-1 en pacientes con DM tipo 2.

Los cambios en la composición de la grasa de la dieta no se alteraron sobre las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina. Sin embargo, modificaron la presión arterial media, al destacar el efecto hipotensor de las dietas enriquecidas con ácido oleico (AGM) o con pescado azul (AGP n-3), respecto a la dieta enriquecida con AGS. Estos resultados, confirman datos epidemiológicos previos que apoyan el valor benéfico sobre la disminución del riesgo vascular, de las dietas enriquecidas con ácido oleico, así como con AGP n-3, derivados del pescado, que caracterizan a la dieta mediterránea.⁵⁰

II.- Antecedentes específicos

En la diabetes mellitus, se han reportado cambios en la respuesta contráctil a agonistas como la fenilefrina en la aorta y estas alteraciones son dependientes del desarrollo de la diabetes donde la cantidad de calcio intracelular y extracelular parecen tener una participación en este fenómeno.⁷⁰ En el mismo sentido, se encontró que la DM altera la expresión de los receptores adrenérgicos α_1 vasculares, sugiriendo que el aumento en la respuesta contráctil adrenérgica en arterias de ratas diabéticas se debe, posiblemente, a un incremento de los receptores α_{1D} y posiblemente α_{1B} . En estas observaciones se descarta la influencia de sustancias vasoactivas liberadas por el endotelio (como las prostaglandinas y el NO).⁹⁰

Adicionalmente, se ha sugerido que la diabetes induce cambios dependientes del tiempo en la reactividad vascular a fenilefrina, debido a que en ratas con diabetes experimental de una semana no se presentaron cambios en el efecto máximo ni en la sensibilidad a la fenilefrina, en contraste a las cuatro semanas de diabetes en donde se incrementan ambos valores. Estas respuestas no están relacionada con la reducción

en la producción de NO, pero pueden deberse a un incremento en la síntesis de prostaglandina H₂, tromboxano A₂ y/o a un mejoramiento en el flujo extracelular de calcio.²⁸

Por otro lado, existen diversos estudios que demuestran la importancia de los ácidos grasos monoinsaturados (como el del aceite de aguacate) en diferentes problemas vasculares. Estudios realizados por Kritchevsky⁴⁹, sobre la participación del aceite de aguacate en la aterosclerosis experimental en conejos mostraron que el aceite de aguacate tiene el mismo orden de aterogenicidad que el aceite de maíz y el de oliva en el tejido aórtico.⁴⁹

Además, en pacientes con diabetes tipo I se estudiaron los efectos benéficos del aumento de ácidos grasos monoinsaturados observando un mejor nivel de glucosa y del perfil lipídico en 23 jóvenes con este padecimiento.²⁴ En pacientes con diabetes mellitus tipo 2, Bonanome y col.⁸ observaron cambios en los niveles de glucosa y en el metabolismo de los lípidos con tres dietas distintas demostrando que una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados puede ser administrada a estos pacientes sin causar alteraciones no deseadas en los niveles de glucosa y el metabolismo lipídico.⁸

Adicionalmente, los ácidos grasos monoinsaturados parecen tener un efecto protector frente al deterioro de concentraciones altas del palmitato y concentraciones elevadas de glucosa sobre las células β -pancreáticas de humano en cultivo. Se observó que al exponer los islotes a los ácidos saturados y concentraciones de glucosa elevada, durante cuatro días, hubo un incremento en la fragmentación del DNA de las células β y una disminución en la proliferación de las mismas. En contraste, observaron que al exponer el cultivo de islotes con ácidos monoinsaturados como ácido palmitoleico o ácido oleico no se afectó la fragmentación del DNA y se indujo la proliferación de células β .⁸

III. HIPÓTESIS

El aceite de aguacate modula la respuesta contráctil en la aorta durante el inicio de la diabetes mellitus.

IV. OBJETIVOS GENERALES

Determinar la participación del aceite de aguacate en la regulación del tono vascular en aorta en ratas con diabetes mellitus.

Determinar el efecto de L-NAME en la contracción producida por fenilefrina en ratas con diabetes mellitus.

Determinar el efecto de indometacina en la contracción producida por fenilefrina en ratas con diabetes mellitus.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

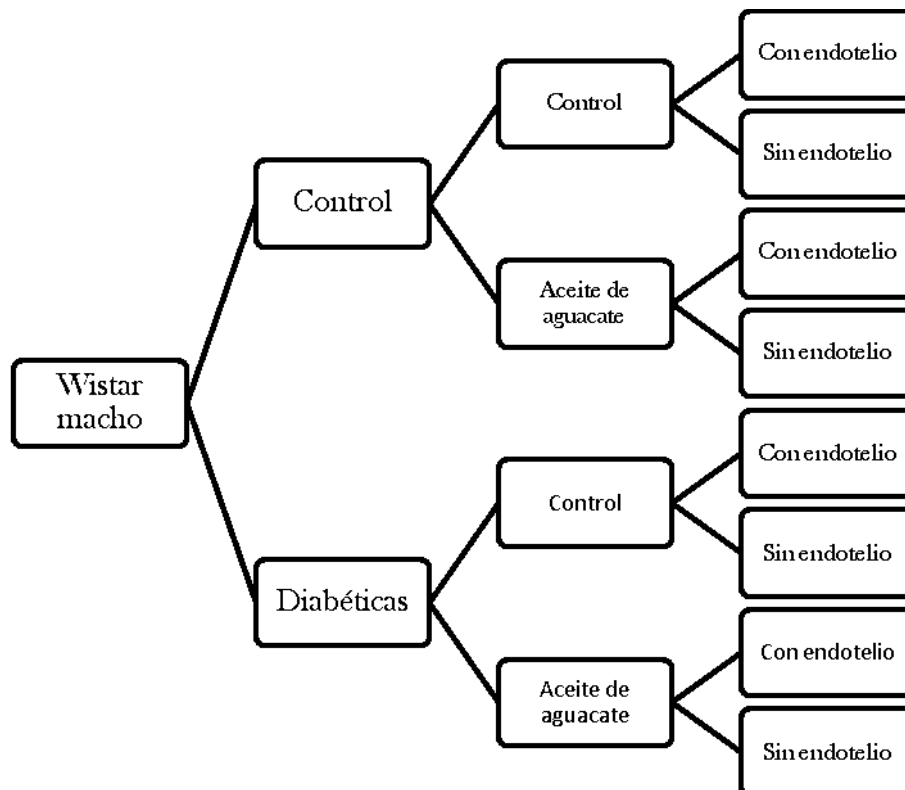
Para el presente estudio, se emplearon 16 ratas macho Wistar (6-7 semanas de edad), con un peso de entre 300-370 g. Se dividieron en 2 grupos: el primer grupo conformado por ratas a las que no se les dio tratamiento alguno (grupo control). Y el segundo grupo conformado por ratas a las que se les indujo diabetes con una inyección intraperitoneal de estreptozotocina, 55mg/kg de peso en dosis única, confirmándose la DM por la determinación de glucosa mayor de 200 mg/dL, con un glucómetro digital, a las 72 hrs. Estos grupos, a su vez, se dividieron en 2 subgrupos. De las 8 ratas a las que se les indujo diabetes, la mitad (4) se trataron con aceite de aguacate, con una dosis de 0.2 ml, cada 24 horas, vía subcutánea (s.c.) durante 7 días, el resto (4) no lo recibieron. A las 8 ratas de el grupo control, la mitad (4) de los animales recibieron aceite de aguacate (0.2 ml, cada 24 horas vía s.c. durante 7 días) y las ratas restantes (4) no recibieron ningún tratamiento, a estas últimas se les consideró control absoluto (CA).

2. Protocolo experimental y preparación del tejido

A los siete días de tratamiento e inducción se realizó el estudio funcional en tejido aórtico de las ratas, extrayendo tanto la porción torácica como la abdominal de cada una de ellas, la aorta extraída, fue cortada en pequeños segmentos de 5 mm aproximadamente (4 anillos) y estos fueron montados en las cámaras del equipo para órgano aislado.

De las ratas de cada subgrupo se montaron 2 anillos, de cada segmento (toracico y abdominal), con endotelio y dos sin endotelio, quedando el protocolo de la siguiente manera:

Cuadro N°1. Representa la forma en que se planteo el protocolo experimental.



Las ratas se sacrificaron en una atmosfera de dióxido de carbono (CO_2), se realizó la disección de la arteria aorta, manteniéndose sumergida en solución Krebs. Una vez retirado el tejido aórtico se removió el tejido graso y conectivo y la preparación se mantuvo en una solución Krebs con la siguiente composición. (mM): NaCl_2 , 118; KCl , 4.7; CaCl_2 , 2.5; MgSO_4 , 1.2; KH_2PO_4 , 1.2; NaHCO_3 , 25; EDTA, 0.026; Glucosa, 11.1; a un pH de 7.4 y 37°C . Posteriormente se cortó el tejido en pequeños anillos de aproximadamente 5mm (cuatro anillos por segmento) y a dos anillos de la porción torácica les removió el endotelio (mediante el uso de la párate rugosa de unas delgadas pinzas, colocando el anillo en la punta y girando el tejido sobre estas) y los otros dos anillos quedaron intactos, de igual manera a los anillos de la porción abdominal.

Cada uno de los anillos se montó en ganchos de nicrom y se colocaron en una cámara para tejido aislado que contenía solución Krebs mantenida a una temperatura de 37°C , y con burbujeo constante de O_2 y CO_2 en proporción 95%/5%, respectivamente. En solución de Krebs, se le adicionaron los antagonistas rawolscina (1×10^{-5}) y propanolol (1×10^{-5}), antagonistas α_2 y β , respectivamente, con el objeto de que la respuesta contráctil a la fenilefrina sea únicamente por la activación de los receptores α_1 adrenérgicos. Los anillos fueron sujetos por la parte inferior a una base de la cámara y por la parte superior a una transductor de tensión isométrica FT03 Grass (Astromed, RI, EUA) conectado a un sistema computarizado Biopac (CA, EUA).

Una vez colocados los anillos se les dio una tensión basal de 3 gramos ya que a esta tensión el tejido puede contraerse y relajarse adecuadamente. A cada cámara se le colocaron 10 ml de solución Krebs. Posteriormente, se realizó la sensibilización del tejido con una concentración submáxima de fenilefrina de $1 \times 10^{-7}\text{M}$ dejándola actuar 5 minutos, se lavó el tejido y se dejó en reposo durante 20 minutos. Este procedimiento se realizó dos veces y en la tercera aplicación de fenilefrina y cuando la respuesta contráctil llega al máximo (meseta), se aplicó carbacol ($1 \times 10^{-5}\text{M}$) para evaluar la integridad del endotelio, donde una relajación igual o mayor de 60% se considero suficiente para demostrar la integridad del endotelio y las respuestas relajantes menores al 40% fueron consideradas como indicativo de la remoción endotelial.

El tejido se dejó en reposo una hora lavando a intervalos de 20 minutos, transcurrida la hora se procedió a realizar la curva control, aplicando fenilefrina de manera acumulativa (1×10^{-9} M hasta 1×10^{-5} M), permitiendo llegar a la meseta en cada concentración antes de llegar a la dosis siguiente, hasta alcanzar el efecto máximo. Esto con la finalidad de tener una curva control que nos sirva de referencia para comparar con la curva experimental. Después de terminada la curva control nuevamente se dejó el tejido en reposo una hora lavándolo en intervalos de 20 minutos.

Concluida la hora se adicionaron los inhibidores no selectivos de la sintasa de óxido nítrico, el L-NAME (1×10^{-4} M) y de la ciclooxigenasa, la indometacina (1×10^{-5} M) a las cámaras que contienen los anillos aórticos, 30 minutos antes de la segunda curva a la fenilefrina. Las curvas a la fenilefrina se realizaron de manera acumulativa, permitiendo llegar a la meseta entre cada concentración de fenilefrina (1×10^{-9} a 1×10^{-5} M) antes de agregar la concentración siguiente, hasta alcanzar nuevamente el efecto máximo.

Los anillos se montaron de la siguiente forma:

Tabla N°2. Montaje de los anillos para su estudio.

Porción Torácica				Porción Abdominal			
1 ^{er} anillo con endotelio	2 ^{do} anillo sin endotelio	3 ^{er} anillo con endotelio	4 ^o anillo sin endotelio	5 ^o anillo con endotelio	6 ^o anillo sin endotelio	7 ^o anillo con endotelio	2 ^{do} anillo sin endotelio
L-NAME	Indometacina	Indometacina	L-NAME	L-NAME	Indometacina	Indometacina	L-NAME

La sensibilidad a los agonistas fue evaluada con los parámetros de Emax y la dosis efectiva 50 (pD2), la cual es el logaritmo negativo de la concentración del fármaco requerido para producir 50% de la respuesta máxima.

VI. RESULTADOS

1. Peso de las ratas y valores de glucosa sanguínea

Antes de cada experimento se registró el peso de los animales así como su nivel de glucosa sanguínea. En los resultados podemos observar que el peso de las ratas tratadas con aceite es significativamente menor comparado el peso de los animales control. En los animales diabéticos, las ratas tratadas con aceite de aguacate presentaron una disminución del peso comparada con las ratas que solo tenían diabetes, incluso presentaron una disminución en el peso significativa comparada con de los animales control (tabla 2).

Con respecto a la glucosa se observó que el nivel de glucosa sanguínea fue mayor en las ratas diabéticas con tratamiento de aceite de aguacate comparado con las ratas diabéticas sin tratamiento y con las ratas control (tabla 2).

Tabla 2. Valores de peso (g) y niveles de glucosa sanguínea (mg/dl) de ratas control y diabéticas con y sin tratamiento con aceite de aguacate.

GRUPO	PESO ANTES DE TRATAMIENTO (g)	PESO (g)	GLUCOSA(mg/dl)
CONTROL	356 ± 1	352 ± 2	78
ACEITE	323 ± 6.6	340 ± 10	
DIABÉTICAS	364 ± 3.6	358 ± 11.5	265 ± 67.6
DIABÉTICAS ACEITE	331 ± 9	317 ± 26	350 ± 25

2. Curvas dosis respuesta a fenilefrina en arteria aorta

Se realizaron curvas dosis-respuesta a la fenilefrina en presencia y ausencia de los inhibidores L-NAME (inhibidor de las óxido nítrico sintasas) e indometacina (inhibidor no selectivo de las ciclooxigenasas), observándose en todos los casos una

contracción dependiente de la concentración. En la figura 7 muestra las curvas realizadas en el grupo de las ratas control en presencia y ausencia de los inhibidores L-NAME e indometacina, en la porción torácica de los anillos con endotelio donde se observa que la fenilefrina produjo una contracción dependiente de la concentración en todos los casos. En los anillos con L-NAME se observó un desplazamiento hacia la izquierda respecto a los anillos controles, evidenciando así la participación del óxido nítrico en la modulación del tono vascular. En los anillos con indometacina se puede observar un desplazamiento hacia la derecha respecto a la curva control, sugiriendo la liberación de prostanoideos contráctiles dependientes del endotelio en respuesta a la fenilefrina (figura 7).

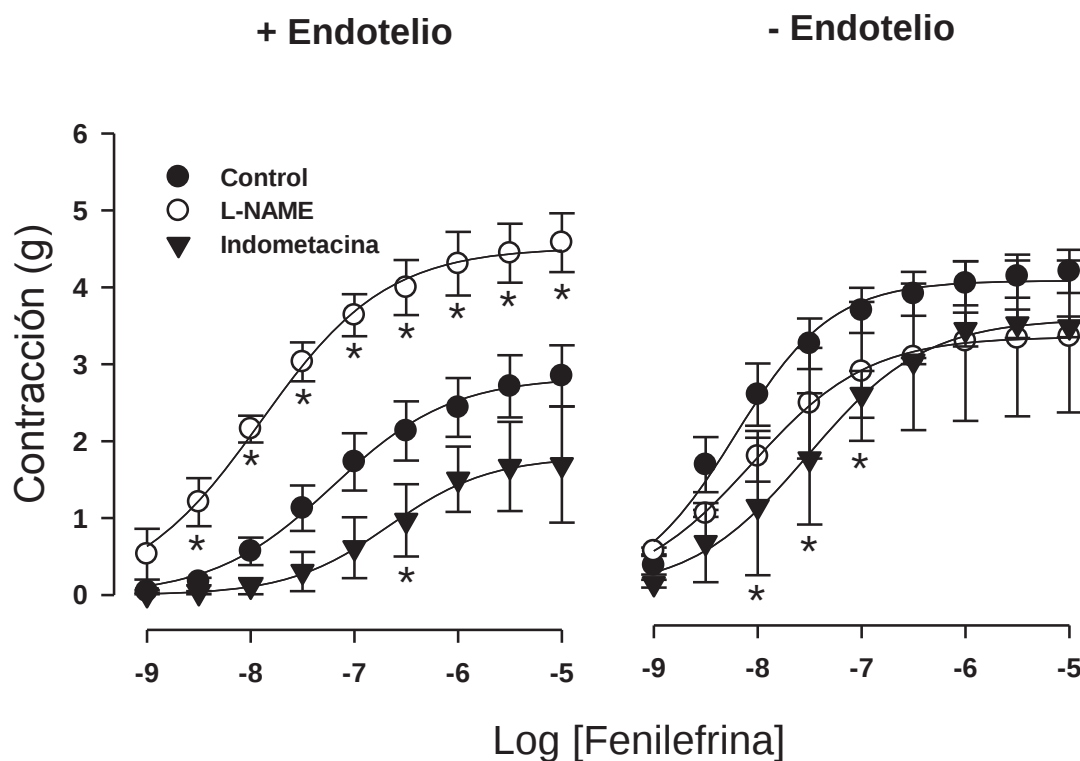


Figura 7. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta torácica, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad en condiciones control, en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p < 0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

En los anillos sin endotelio de la porción torácica (figura 7), el L-NAME no modificó la respuesta con respecto a la curva control. En los anillos con indometacina se observó una disminución de la contracción, sin embargo, ésta no fue estadísticamente significativa sugiriendo la participación de los prostanoïdes contráctiles en dichos anillos.

La respuesta de los anillos con endotelio de las ratas control de la porción abdominal de la aorta se muestra en la figura 8 y se observa un desplazamiento de la curva hacia la izquierda y un efecto máximo mayor ($p<0.05$) en presencia de L-NAME con respecto al grupo control, al igual que el efecto presentado en el segmento torácico. En presencia de indometacina se observó una disminución de la contracción en la curva a la fenilefrina, desplazándose la curva hacia la derecha con una disminución en el efecto máximo ($p<0.05$), sugiriéndose de esta manera una mayor participación de los prostanoïdes vasoconstrictores en este lecho vascular, con respecto a lo observado en el segmento torácico.

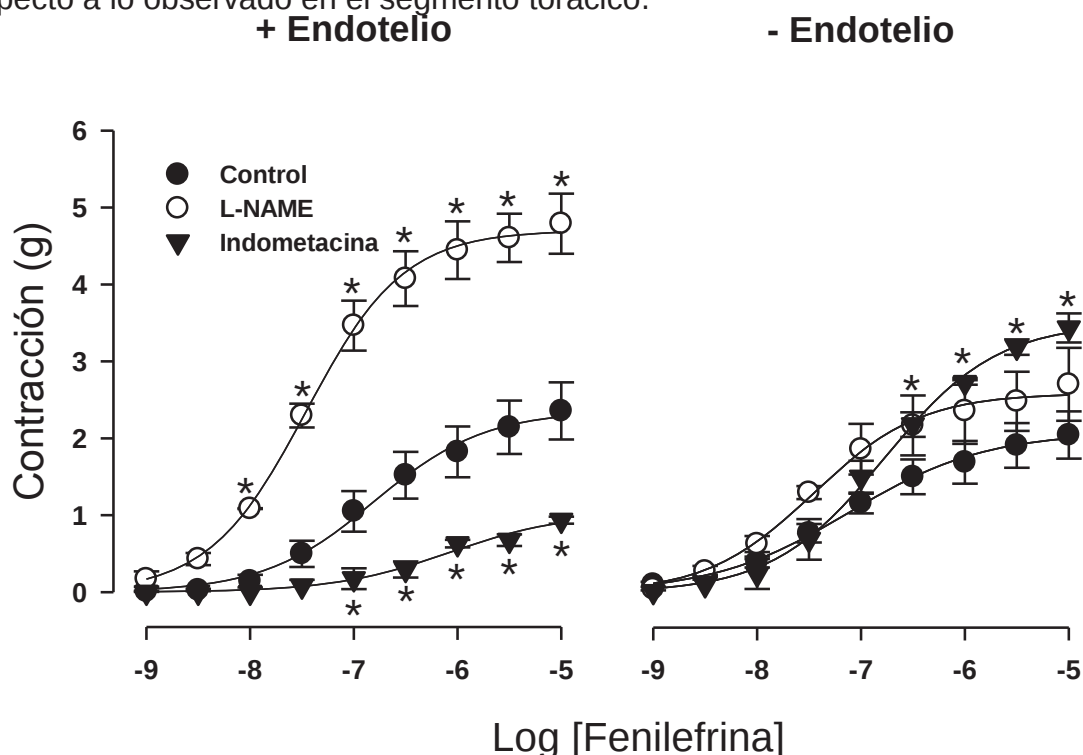


Figura 8. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta abdominal, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad en condiciones control, en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p<0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

En la aorta abdominal sin endotelio la presencia de L-NAME no se observó un desplazamiento de la curva con respecto al control. En presencia de indometacina se observa una contracción mayor sólo a las concentraciones más altas de fenilefrina (figura 8).

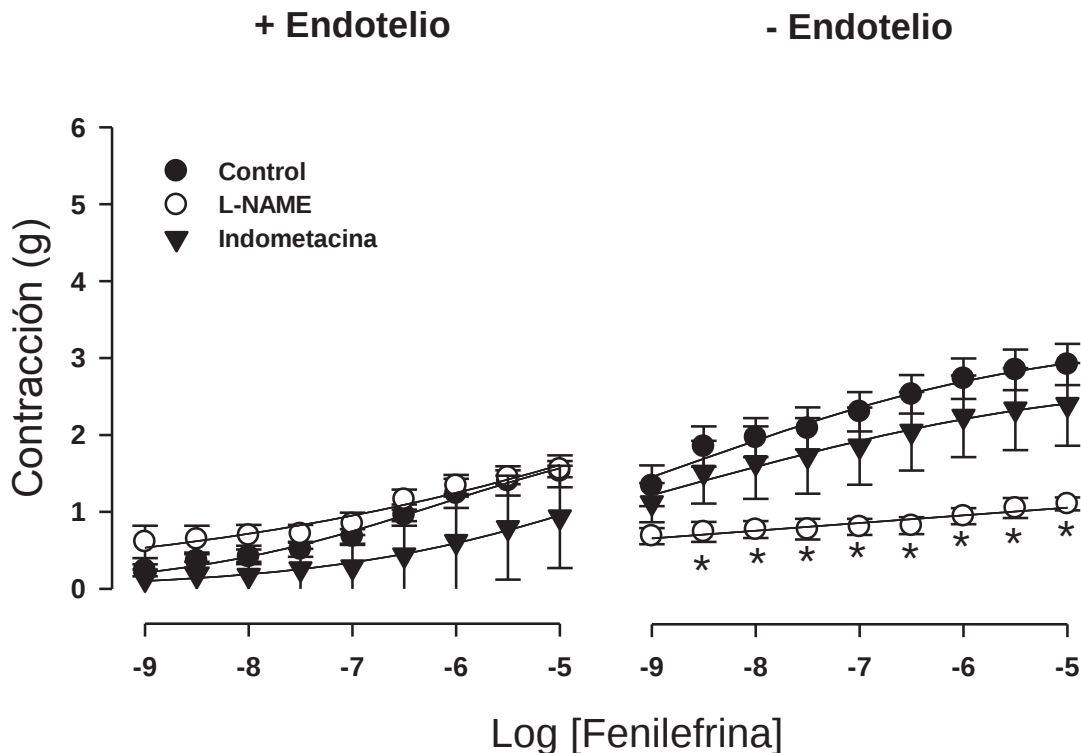


Figura 9. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta torácica, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad, tratamiento con aceite de aguacate durante una semana (0.2ml diarios vía SC), en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p < 0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

La reactividad observada en los anillos de aorta torácica con endotelio de las ratas tratadas con aceite de aguacate (0.2 ml; s.c.) se muestra en la figura 9. La curva control presenta un efecto máximo disminuido, al compararse con la respuesta de los animales sin tratamiento, ya que al estimular con la concentración más alta, ésta sólo produjo contracción de alrededor de 1 g. El L-NAME y la indometacina fueron incapaces de modificar la contracción observada en el grupo control.

En vasos de animales tratados, la remoción del endotelio aumentó la respuesta presentada por la aorta torácica de manera significativa. De manera interesante, el L-

NAME provocó una disminución en la contracción en toda la curva a la fenilefrina y la indometacina no modificó la contracción con respecto a la curva control (figura 9).

En la aorta abdominal con endotelio de ratas tratadas con aceite de aguacate se observó un efecto máximo mayor (aproximadamente el doble) que en la porción torácica, ya que al estimular con la dosis más baja de fenilefrina, la curva control se contrajo rápidamente hasta aproximadamente 1 g. El L-NAME y la indometacina produjeron una disminución de la contracción aunque solo la indometacina lo hizo de forma significativa (figura 10; $p < 0.05$).

En la aorta abdominal sin endotelio de animales tratados con aceite de aguacate, al agregar la primera concentración de fenilefrina se presentó una contracción de casi 2.0 g. En esta condición, el L-NAME produjo una disminución significativa de la respuesta contráctil con respecto al control y la indometacina presentó una disminución menor que fue significativa sólo a las concentraciones más bajas de fenilefrina (figura 10; $p < 0.05$).

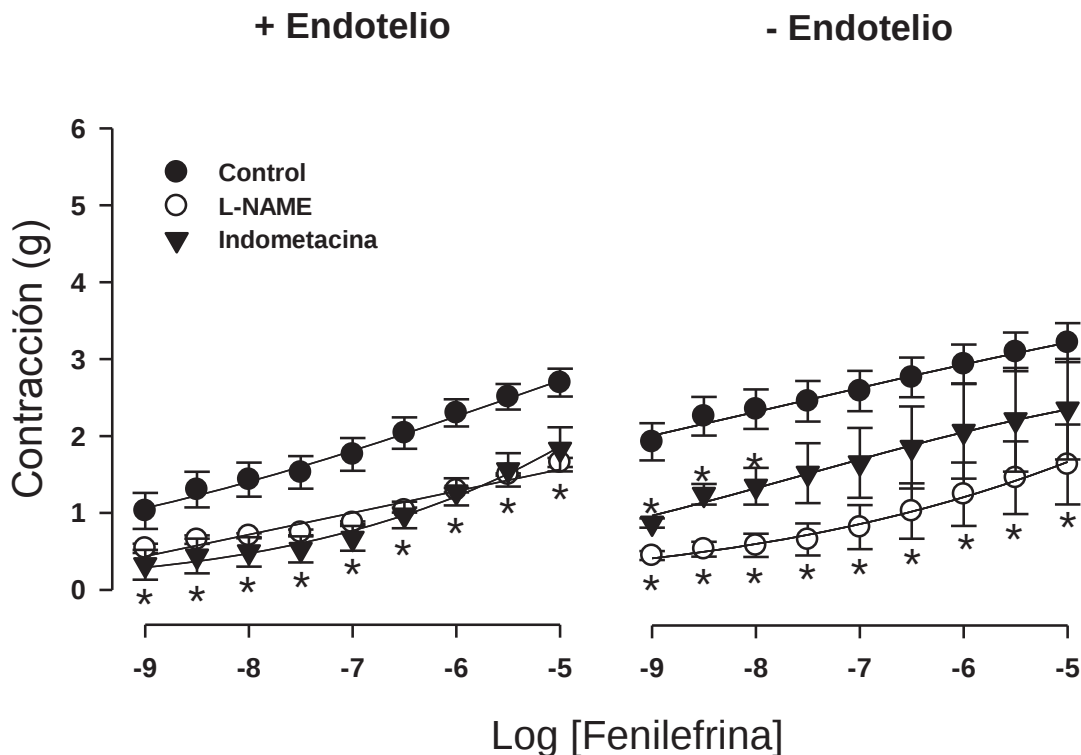


Figura 10. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta abdominal, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad, tratamiento con aceite de aguacate durante una semana (0.2ml diarios vía SC), en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el

promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p < 0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

En la figura 11, se presenta la respuesta de la aorta con endotelio del segmento torácico de las ratas diabéticas y se puede observar una contracción dependiente de la contracción a fenilefrina en la curva control. Ni el L-NAME ni la indometacina fueron capaces de modificar la respuesta observada en el grupo control.

En el segmento torácico sin endotelio de las ratas diabéticas se observó que la indometacina produjo un ligero desplazamiento de la curva hacia la izquierda con respecto a la curva control, sin alcanzar la diferencia estadística. Por otro lado, en presencia de L-NAME se observó que hubo un bloqueo significativo ($p < 0.05$) de la respuesta con respecto a la curva control, observado que el L-NAME tiene un efecto directo (relajante) no dependiente del endotelio responsable en parte de la contracción a la fenilefrina (figura 11).

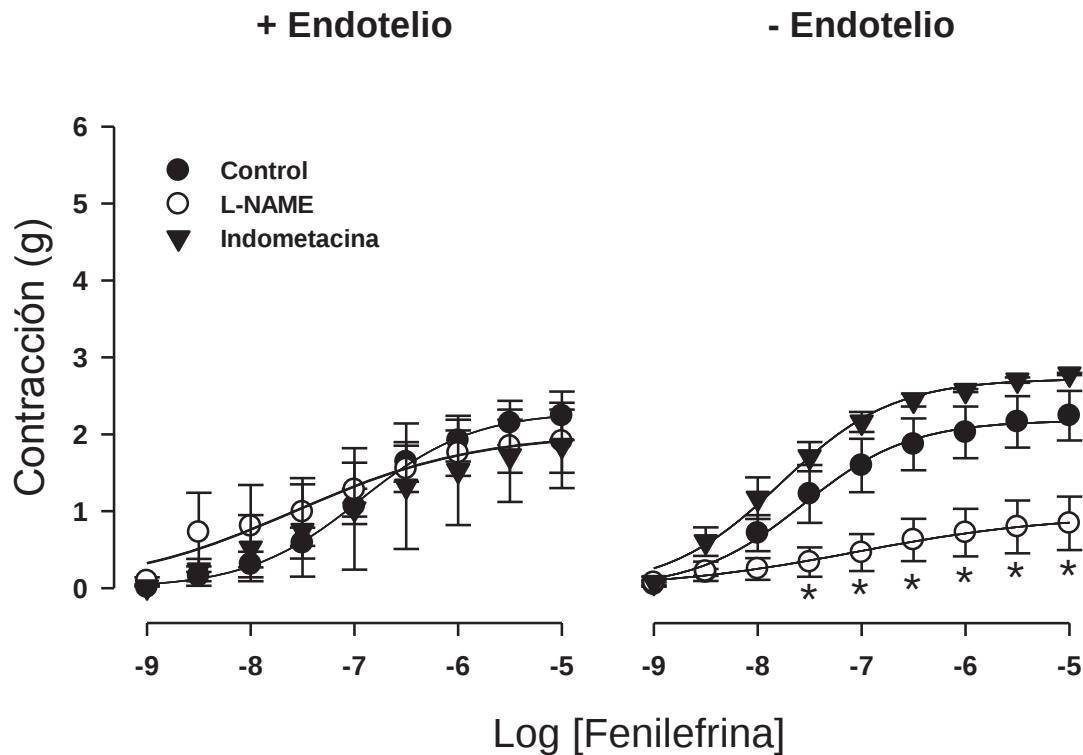


Figura 11. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta torácica, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad, con diabetes experimental (estreptozotocina 55mg/kg) en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p < 0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

En el segmento abdominal de la aorta de ratas diabéticas se observó que al estimular el tejido con L-NAME, no se modificó la respuesta con respecto a la curva control, al estimular con indometacina, ésta produjo una disminución significativa ($p<0.05$) de la respuesta contráctil evidenciando que existe un factor contráctil dependiente de las ciclooxygenasas tales como prostanoïdes contráctiles (figura 12).

En la misma porción abdominal sin endotelio de ratas diabéticas, se observó una contracción dependiente de la concentración de fenilefrina. En presencia de L-NAME, se observa un decremento significativo de la curva. La indometacina produjo también una depresión de la curva, a las concentraciones bajas de fenilefrina (figura 12).

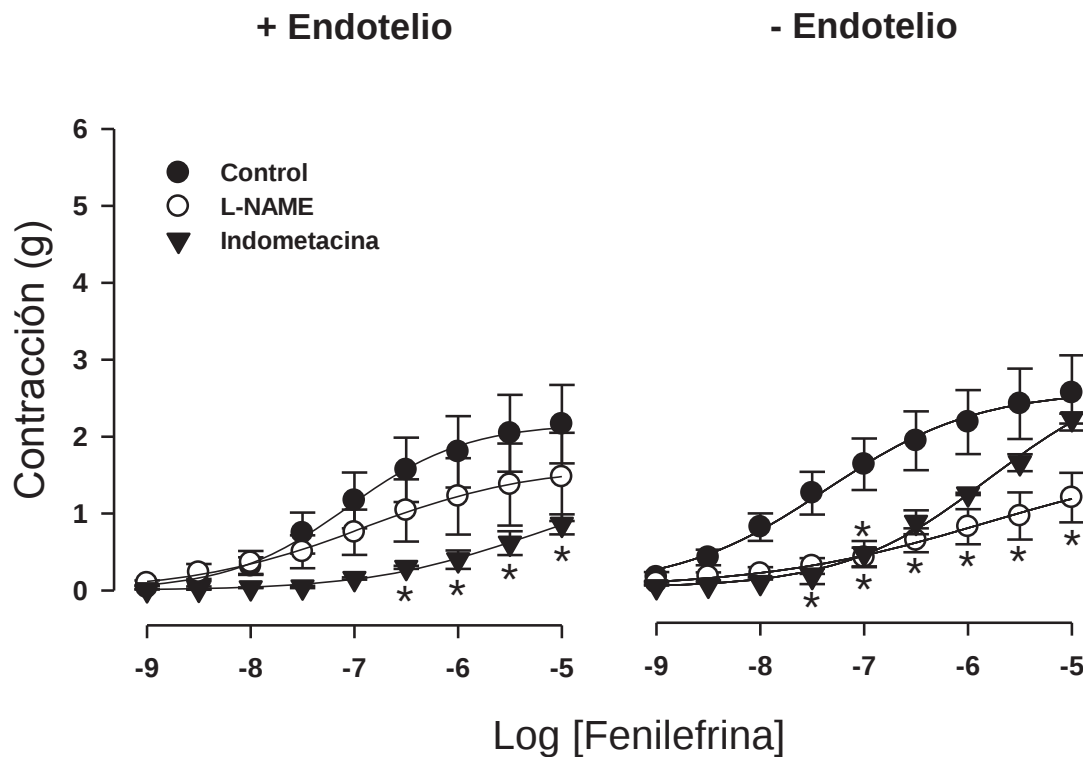


Figura 12. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta abdominal, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad, con diabetes experimental (estreptozotocina 55mg/kg) en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p<0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

En la figura 13 se muestran las curvas efectuadas en aorta torácica con endotelio de ratas con diabetes mellitus y con tratamiento de aceite de aguacate. Se observó una contracción dependiente de la concentración a fenilefrina. El L-NAME y la indometacina desplazaron la curva concentración respuesta hacia la izquierda, aunque sólo el L-NAME lo hizo de manera estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En el segmento torácico de la aorta sin endotelio se puede observar que ni el L-NAME ni la indometacina modificaron la respuesta contráctil.

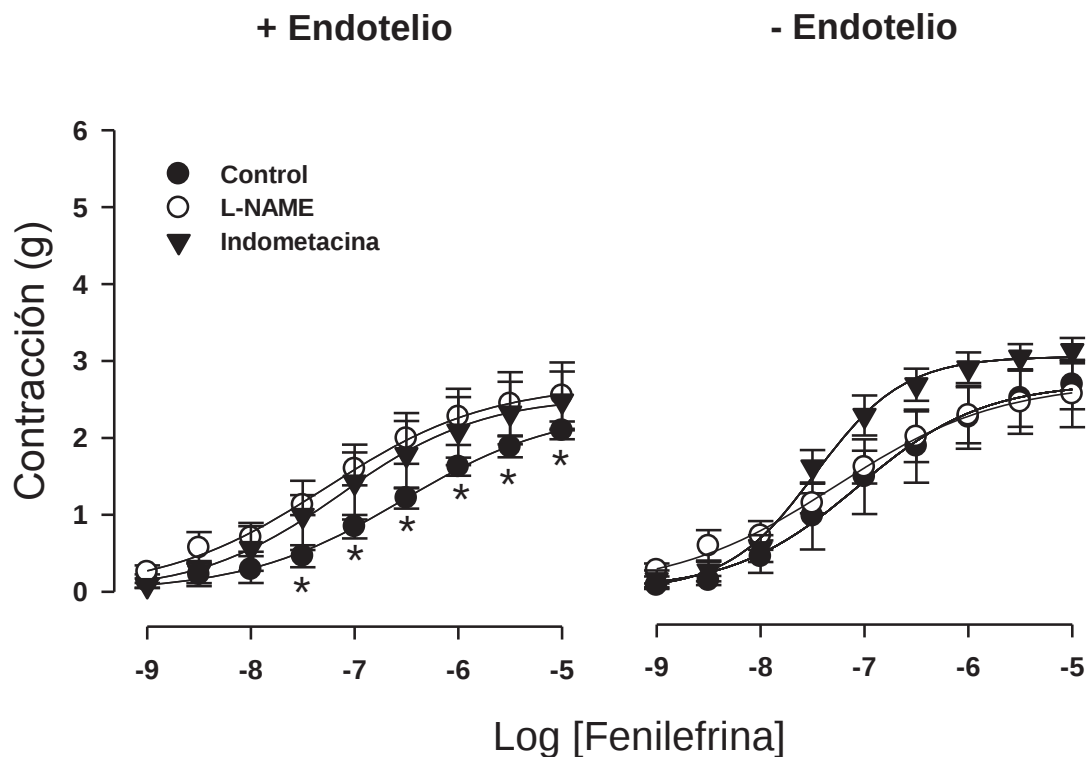


Figura 13. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta torácica, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad, con diabetes experimental (estreptozotocina 55mg/kg), con tratamiento (aceite de aguacate, 0.2ml vía SC; 7 días), en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p < 0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

En la aorta abdominal con endotelio ratas diabéticas que recibieron aceite de aguacate se observa que el L-NAME produjo una disminución significativa de la curva concentración-respuesta al compararse con la curva control y la indometacina fue incapaz de modificar la respuesta (figura 14).

En el segmento abdominal sin endotelio de animales diabeticos tratados con aceite de aguacate se observó que el L-NAME disminuyó la respuesta contráctil de manera significativa y que la indometacina produjo una disminución de la respuesta pero más discreta que la producida por el L-NAME.

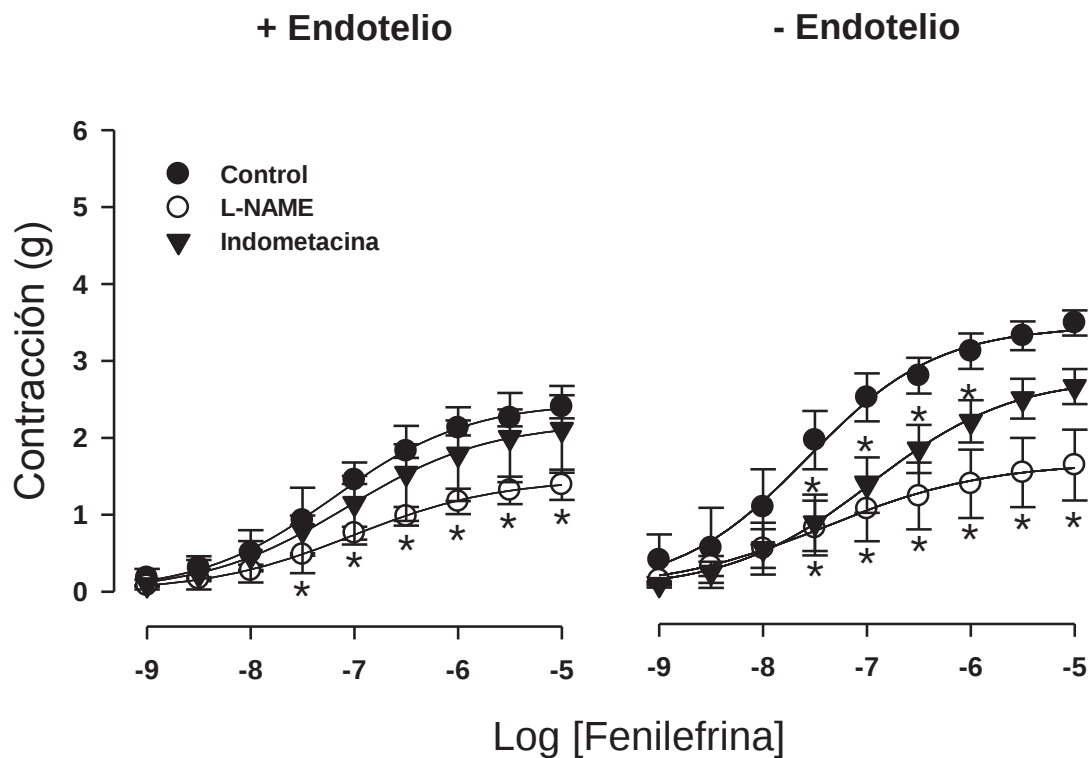


Figura 14. Curva concentración respuesta a fenilefrina en aorta abdominal, con y sin endotelio de ratas de 6 a 7 semanas de edad, con diabetes experimental (estreptozotocina 55mg/Kg.), con tratamiento (aceite de aguacate, 0.2ml vía SC; 7 días), en presencia de L-NAME e indometacina. Cada valor representa el promedio $\pm$ error estándar de 3-4 experimentos. * $p < 0.05$ vs. Control; Student-Newman-Keuls.

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran como el endotelio participa en la modulación de la respuesta contráctil del músculo liso vascular, producida por fenilefrina en cada segmento de la arteria aorta. Este hecho se hace evidente por el aumento en la contracción con un desplazamiento de las curvas hacia la izquierda en presencia de L-NAME, lo anterior indica que en los vasos de los animales control el endotelio modula la respuesta a través del NO vía eNOS, que es la principal isoforma que se encuentra presente en el endotelio, ya que cuando ésta se inhibe se puede apreciar una notable contracción que además es dependiente de la concentración.

En lo que respecta a la producción de prostanoïdes, se conoce que en el endotelio existe una mayor participación de los prostanoïdes contráctiles como tromboxano A₂, PGH₂ o ET. En nuestro estudio se observó que la inhibición de las ciclooxigenasas, con indometacina, produjo una disminución en la respuesta contráctil que fue más marcada en el segmento abdominal. Lo anterior sugiere que en este segmento hay una participación mayor de prostanoïdes contráctiles endoteliales en respuesta a la fenilefrina. En la misma porción torácica de las ratas controles pero sin endotelio se observa que la inhibición del NO, no altera la contracción de igual manera que cuando se tiene endotelio, además el efecto máximo de las curvas control aumentó. Diversos estudios han comprobado que si es removido el endotelio, aumenta el efecto máximo y la sensibilidad de las arterias a estímulos contráctiles de algunos agonistas,⁵⁻²² es por ello que se afirma que el endotelio tiene un papel modulador, y esta modulación debida a la liberación del óxido nítrico, pues si es inhibida la eNOS se aumentan las contracciones en arterias con endotelio, pero no en arterias sin endotelio²²⁻²³. Lo anterior se puede observar en la figura 8, al inhibir el NO, la contracción no se encuentra por encima de la curva control, lo que evidencia el estudio anterior mencionado.

En la porción abdominal se observa la participación del NO en la modulación del tono vascular debido a que al ser inhibido el vaso se contrae intensamente. Los prostanoïdes que se sugiere participan en este segmento principalmente, son los vasoconstrictores como el TXA₂ y la PGH₂. Debido a que la curva se encuentra muy contraída por que estos se encuentran inhibidos. En este mismo segmento sin

endotelio, la inhibición del NO fue incapaz de producir cambios en la contracción a diferencia de cuando está presente el endotelio.

Lo antes mencionado nos sugiere que en condiciones normales la arteria torácica de las ratas Wistar se encuentra modulada por el NO, principalmente, y por una producción discreta de prostanoïdes contráctiles (figura 7). Por otro lado, las curvas concentración-respuesta del segmento abdominal nos sugieren que el NO modula la respuesta contráctil en este segmento, pero que además, existe una participación mayor de los prostanoïdes vasoconstrictores (figura 8). Bobadilla-Lugo y col.⁷ reportaron que en el segmento torácico no hay una participación importante de prostaglandinas contráctiles en respuesta a la fenilefrina pero en el segmento abdominal la inhibición de éstas con la indometacina produce una disminución marcada de la respuesta a la fenilefrina. Por otro lado, en el mismo reporte los autores encuentran que no existe diferencia en la modulación debida al NO de la respuesta a la fenilefrina dependiente del segmento.⁷

Se puede observar en las figuras 9 y 10 que el tratamiento de las ratas con aceite de aguacate produjo una disminución considerable de los efectos máximos a la fenilefrina con respecto a las ratas control, mostrando cambios importantes en el patrón de contracción en ambos segmentos de la aorta, es decir las curvas no presentan un comportamiento sigmoide. Lo anterior se puede explicar, al menos en parte, por una disminución en el número de receptores adrenérgicos inducida por el aceite de aguacate o que el aceite de aguacate provee de una regulación directa en los mecanismos de contracción, sin embargo estas suposiciones deben comprobarse. Otro hallazgo importante fue que al agregar la primera concentración de fenilefrina en los grupos tratados con aceite de aguacate la contracción se incrementó hasta 2 g aproximadamente en los segmentos sin endotelio, fenómeno que no se presentó en las diabéticas tratadas, este hecho parece evidenciar una sensibilización adrenérgica en el músculo liso vascular debida al aceite de aguacate (figuras 9 y 10).

De manera sorprendente, el L-NAME produjo una marcada disminución de la contracción en el segmento torácico sin endotelio (figura 9) y en el segmento abdominal con y sin endotelio (figura 10) que no podemos explicar, sin embargo podemos sugerir que puede deberse a un mecanismo inespecífico del L-NAME provocado por el aceite

de aguacate. En cuanto a la producción de prostaglandinas, éstas parecen no participar en la contracción en la aorta torácica (figura 9) pero participan de manera importante en el segmento abdominal y parecen ser de origen muscular como se ha descrito en la literatura (figura 10).⁷

En los animales diabéticos, la aorta torácica con endotelio no mostró cambios con la adición de indometacina o de L-NAME lo cual nos sugiere que en este segmento y a los 7 días pos inducción de la diabetes ya existe un marcado daño endotelial. En el mismo segmento sin endotelio se observa que la indometacina no provocó cambios en la contracción y el L-NAME produjo una disminución importante de la contracción que no podemos explicar debido a la ausencia del endotelio y que puede ser debido a un mecanismo inespecífico del L-NAME (figura 11).

En ratas con diabetes mellitus, el segmento abdominal de la aorta con endotelio no mostró cambios en presencia de L-NAME y la indometacina prácticamente abolió la respuesta contráctil indicando una mayor participación de éstas en esta región de la aorta (figura 12). La participación de las prostaglandinas está presente también en ausencia de endotelio pero sólo a las concentraciones más bajas de fenilefrina lo cual sugiere que parte la abolición del efecto observada en los anillos con endotelio tiene la influencia del NO. De igual manera podemos apreciar la disminución de la contracción debida al L-NAME.

Estudios de Benito y colaboradores (año) reportan que en las fases iniciales de la diabetes experimental existe una llamativa hipocontractilidad vascular, dependiente de la presencia de endotelio debido, probablemente, a una excesiva producción de NO espontánea o estimulada por otros agonistas, o bien a una hipersensibilidad del músculo liso vascular a los efectos de aquél. En lo que respecta a los prostanoides, en este padecimiento se ven más involucrados los de tipo contráctil, ya que en disfunción endotelial en la diabetes existe una disminución de la producción de factores relajantes y un incremento de la producción de los factores vasoconstrictores.⁵³

En el segmento torácico con endotelio de ratas diabéticas tratadas con aceite de aguacate se puede observar que la indometacina no presentó ningún efecto con lo cual se descarta la producción de prostaglandinas y el L-NAME produjo un aumento significativo de la contracción evidenciando un aumento en la producción endotelial de

NO. No se presentó el efecto anterior en los vasos sin endotelio (figura 13). En el segmento abdominal de la aorta con endotelio se observó que la indometacina no produjo cambios, sin embargo la remoción del endotelio produjo una disminución de la contracción evidenciando la producción de prostaglandinas contráctiles del músculo liso. En este mismo segmento, el L-NAME presentó la disminución en la contracción observada con anterioridad y no se puede explicar con los resultados del presente trabajo y se requiere de nuevos enfoques para dilucidar los mecanismos involucrados.

VIII. CONCLUSIONES

En ratas normales, el aceite de aguacate produjo una disminución en la contractilidad a la fenilefrina tanto en presencia como en ausencia del endotelio.

En la diabetes mellitus temprana, el aceite de aguacate produjo una mejoría de la función endotelial.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. ADIPER; IDF 2009- Montreal: la diabetes es una epidemia fuera de control; publicado por Riner Porlles Santos. 19 de octubre del 2009.
2. Alan Estevens, James Lowe. Histología Humana. "Sistemas Circulatorios, Sanguíneo, Linfático y Corazón." Ed. EL SEVIER. 30 Edición. Madrid España 2006. p. 147.
3. Alvizouri-Muños M., Corral-Cossio A., Rodríguez-Barrón A., Chávez-Carbajal F., (2003) El aceite de aguacate en la prevención de la aterosclerosis experimental inducida con colesterol. Med. Int Mex.; 19(2): 67-72.
4. Arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature; 288: 373–376
5. Barton, M., Cosentino, F., Brandes, R.O., Moreau, P., Shaw, S., Luscher, T.F. 1997. Anatomic heterogeneity of vascular Aging. Role of nitric oxide and endothelium. Hypertension, 30:817.
6. Benito, A. Saiz, E. Rodríguez-Puyol M. Rodríguez Puyol D. Implicaciones en la disfunción vascular en la diabetes experimental. Papel del captopril. Servicio de medicina interna y sección de nefrología. Hospital universitario príncipe de Asturias. Departamento de fisiología y farmacología. Universidad de Alcalá de Henares. Madrid.
7. Bobadilla-Lugo R.A., Hernández-Hernández, D., Castillo-Henkel, C., and Hong, E. (1998) Prostaglandin and nitric oxide interactions in rat aorta. Proc. West. Pharmacol. Soc.;41:91-92.
8. Bonanoine, A., Visona, A., Lusiani, L., Beltramello, G., Confortin, L., Biffanti, S., Sorgato, F., Costa, F., Pagnan, A. (1991) Carbohydrate and lipid metabolism in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: effects of a low-fat, high-carbohydrate diet vs a diet high in monounsaturated fatty acids. Am, J. Clin. Nutr. 54 (3): 586.
9. Carranza, J., Alvizouri, M., Alvarado, M.R., Chávez, F., Gómez, M., Herrera, J. (1995) Efectos del aguacate sobre los niveles de lípidos séricos en pacientes con dislipidemias fenotipo II y IV. Archivo, Inst. Cardiol. Mex. 65 (4): 342-348.
10. Catella-Lawson F., McAdam, B., Morrison, B.W., Kapoor, S., Kujubu, D., Antes L, et al. (1999) Effects of specific inhibition of cyclooxygenase-2 on sodium balance, hemodynamics, and vasoactive eicosanoids. J Pharmacol Exp Ther. 289:735-41.
11. Ceccato, D. (2005) Propiedades del aguacate como protector cardiaco. [en línea]: <http://www.reportajes.org/2005/10/25/propiedades-del-aguacate-como-protector-cardiaco/>. Consulta; 12-Noviembre 09.
12. Cecilia Andrea Artigas. Vasos Sanguíneos y Hemodinámica. Regulación de la Presión Arterial. [En línea] www.medtronic.com/rhythms/downloads/pace_sp9300547SL.pdf consultado el 26 de enero del 2010.

13. Cecilio Álamo Gonzales. (2006) Guía farmacológica de los analgésicos; volumen I. Guías clínicas de la sociedad española del dolor. Ed. Ilustrada. Editor: Aran ediciones,, pág. 96-130
14. Chandrasekharan, N.V., Dai, H., Lamar, T.R.K., Evanson, K., Tomsik, J., Elton, T., et al. (2002) COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. PNAS. 99:13926-13931.
15. Coral, S and Bruzos, C. Guía de alimentación y salud. Facultad de ciencias nutrición y dietética. UNED. Online [www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica-I/guía/index.html]. Consultado 12 de diciembre 2009.
16. Cryer, P.E. 1983. Coordinated responses of glucogenic hormones to central glucopenia: the role of the sympathoadrenal system. Advances. In Metabolic, Disorders, 10: 469-483.
17. Dalli P. E. 2005 Evaluación de la disfunción endotelial en pacientes con diabetes. Av Diabetol. 21: 292-301.
18. Delfino, M.R., y Sarno, M.C., (2001) Perfil de Ácidos Grasos de Algunos Alimentos Autóctonos de Origen Animal. Cátedra de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UNNE. Argentina. 4p.
19. Diabetes mellitus tipo II. Departamento de endocrinología y nutrición. CLINICA UNIVERSIDAD DE NAVARRA. 26 de mayo del 2009: online [www.cun.es/areadesalud/enfermedades/endocrinologicas/diabetes-mellitus-tipo-2/]
20. Diabetes; Guías de consulta y prevención. Especialista medicina alternativa equipo: Ed. LEA, 2006, PAG 17-20.
21. Díaz Rodríguez, L.A. and Onatra, H. W. Papel del endotelio en el climaterio; revista de menopausia.
22. Dohi, Y., Kojima, M., and Sato, J., (1996) Endothelial modulation of contractile responses in arteries from hypertensive rats. Hypertension. 728:732.
23. Dominiczak, A.F., and Bohr, D.F. (1995) Nitric oxide and its putative role in hypertension. Hypertension, 1202:1225.
24. Donaghue, K. C., Pena, M. M., Chan, A. K. F., Blades, B. L., King, J., Storlien, L. H., Silink, M. 2000. Beneficial effects of increasing monounsaturated fat intake in adolescents with type 1 diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice. 48(3). 193-19.
25. Duester, K.C. (2000) Avocados. A Look Beyond Basic Nutrition For One on Fatty Acid Composition of Persea Americana Fruit Mesocarp. J. Agric. Food Chem. 36: 287-293.
26. El-Assad, W., Buteau, J., Peyot ML., Nolan, C., Roduit, R., Hardy, S., (2003) et al. Saturated fatty acids synergizes with elevated glucose to cause pancreatic beta-cell death. Endocrinology. 144: 4154-4163.

27. Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A., Grodsky, G.M. (2001) Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentration of α -lipoic acid. *Diabetes*. 50: 404-410.
28. Fabiano, E. X., Paula, A., Davel, C., Rossoni, V.L., and Dalton V. Vassallo. (2002) Time-dependent hyperreactivity to phenylephrine in aorta from untreated diabetic rats: role of prostanooids and calcium mobilization. Programa de Pós-Graduação, Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro Biomédico, Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Marechal Campos, 1468, 29040-29091, Vitória, ES, Brazil.
29. Federación internacional de diabetes. IDF DIABETES ATLAS. Diabetes in the Young: a global perspective. Online [www.diabetesatlas.org] consultado el 30 de diciembre del 2009.
30. Federación mexicana de diabetes, A, C. diabetes en números. Información actualizada al 15 de abril del 2009. [en línea] http://www.fmdiabetes.org/v2/paginas/d_numeros.php consulta 3 de enero 2010.
31. Fernández, A., Abudara, V., R. Morales F., (1997) El oxido nítrico como neurotransmisor y neuromodelador. *Neurofisiología celular*. Departamento de fisiología., facultad de medicina., universidad de la republica., Montevideo Uruguay.
32. Fisiopatología de la hipertensión arterial; fisiología del endotelio; Edición: Sebastián Obregón. Universidad austral. Facultad de ciencias biomédicas.
33. Flores, J. 2005. *Farmacología humana*. Editorial MASSON., pág. 347-349. Cap. 5.
34. Fu, J.Y., Masferrer, J.L., Seibert, K., Raz, A., Needleman, P., (1990) The induction and supression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem*; 265: 16737-16740
35. *Function*, pp 1-228, CRC Press, Boca Raton, FL.
36. Furchgott, R.F., Zawadzki, J.V. (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of
37. Fuster Ruiz de Apodaca R. (1996) Influencia de la diabetes sobre la actividad de la arteria renal de conejo. Tesis de licenciatura. Departamento de fisiología. Universidad UV.
38. Ganog W.F. *fisiología medica* 18a edición. Ed. Manual moderno.
39. Ganog William F. *fisiología medica* 18a edición. Ed. Manual moderno. Cap. 2. Pág. 155.
40. Godínez Martínez, M.A, 2007. Evaluación de la participación de prostanooides contráctiles en la respuesta a Angiotensina II en Aorta de rata. Tesis de maestría. Sección de estudios de posgrado e investigación. Escuela superior de medicina. IPN.
41. Godinez-Hernandez, D. 2002. "Modulacion endotelial de la contracción vascular en ratas normotensas e hipertensas durante el desarrollo: participación del oxido nítrico y de las prostaglandinas. Departamento de farmacología. IPN. Mexico. Pag 30.

42. Goodman & Gilman. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9a edición: editorial Mc Graw-Hill interamericana.
43. Hernández, A.L., Aljama, P., Arias, M., Caramelo, C., Egido, J., Lamas S. 2003. NEFROLOGIA CLINICA. 2a Edición. Ed. Panamericana. Madrid España.
44. Hu, FB., Stampfer, MJ. (2003) Is type 2 diabetes mellitus a vascular condition? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 23: 1715-1716.
45. Jennifer Hellwig, MS, RD. (2009). Aceite de Pescado, Omega-3 y Enfermedades Cardiacas. HEALTH LIBRARY. Ultima revision: Consultada enero 2010; 12:00 pm. En línea: <http://healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?token=a4c1f00bd24544f2a90e20b047f84a6a&chunkiid=125844>.
46. Kadam, S. S., and Salunkhe, K. D. (1995) Avocado, In: Handbook of fruit science and technology. Production, composition, storage and processing. Salunke K. D. and Kadam S. S. (eds). Marcel Dekker, Inc. New York, USA. p. 363–375.
47. Kilpatrick, E.V. & Cocks, T.M. (1994) Evidence for differential roles of nitric oxide (NO) and hyperpolarization in endothelium-dependent relaxation of pig isolated coronary artery. *Br. J. Pharmacol.*, 112: 557:565.
48. Kris-Etherton, PM. (1999) AHA science advisory: monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circul.* 100: 1253-1258.
49. Kritchevsky, D., Shirley., Tepper, A., Scott, Wright., Susanne, K., Czarnecki, T., Wilson, A., and Robert J. Nicolosi. (2003) Cholesterol Vehicle in Experimental Atherosclerosis 24: Avocado Oil. *J. Am. Coll. Nutr.* 22: 52 - 55.
50. Lahoz, C., Alon, R. Porres, A. y Mata, P. (1999) Las dietas enriquecidas en ácidos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados omega3 disminuyen la presión arterial, sin modificarla concentración de insulina plasmática en sujetos sanos. *Med. Clin.* 112(4); 133-137.
51. López-Ledesma, R., Frati-Munari, A.C; Hernández-Domínguez, B.C., Cervantes-Montalvo, S., Hernández-Luna, M.H., Juárez, C., And Moran-Lira, S. (1996) Monounsaturated fatty acid (avocado) rich diet for mild hypercholesterolemia. *Arch. Med. Res.* 2794: 519-523.
52. Lüscher, TF and Vanhoutte, PM. (1990) The Endothelium: Modulator of Cardiovascular
53. M. Amaya Alexandre de Artiñano. Ortega Mateo A.I. (2000) Función y disfunción endotelial. 1a edición. Ed. Compútense. España. Pág. 7. Pág. 86-89.
54. Maedler, K., Oberholzer, J., Bucher, P., Spinas, A.G., and Marc Y. Donath. (2003) Monounsaturated Fatty Acids Prevent the Deleterious Effects of Palmitate and High Glucose on Human Pancreatic β -Cell Turnover and Function. *Diabetes*, 52:726-733.

55. Manuel Velasco y Rafael Hernández. (2001) Manual de Hipertensión Arterial al Día. Ed.: Mc Graw Hill. Pág. 59-66. Cap. 2.
56. Marcia de la Vega, V., Rodríguez, M.G. Quintana, G.M. La disfunción endotelial, una propuesta hacia el cambio. Argentina. Online [www.intermedicina.com].
57. Marcus, B.C., Wyble, CW., Hynes, KL., et al. (1996) Cytokine-induced increases in endothelial permeability occur after adhesion molecule expression. *Surgery*. 120: 411-416.
58. McAdam, B.F., Catella-Lawson, F., Mardini, I.A., Kapoor, S., Lawson, J.A., Fitzgerald, G.A., (1999) Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci USA*;96:272-7.
59. Murohara, T. Horowitz, JR. Silver, M. et al. (1998) Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation*; 98: 99-107.
60. Nakashima, M., Mombouli, J.V., Taylor, A.A., et al. 1993. Endothelium-dependent hyperpolarization caused by bradykinin in human coronary arteries. *J. Clin. Invest.* 92:2867–2871.
61. Newby A., Handerson A., Stimulus secretion coupling in vascular endothelium cells. *Annu Rev Physiol.* 1990; 52: 661-674.
62. NobelPrice. En línea: www.nobelprice.org consultado el 10 de diciembre 2009
63. Online. NobelPrice.org. consultado el 10 de diciembre 2009.
64. Organización Mundial de la Salud.
65. Palmer R.M., Ferriege A.G., Mocada S., (1987) Nitric Oxide Release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor nature. 327: 524-6.
66. Pocock, G y Richards, Ch.D. 1999, fisiología humana la base de la medicina. Editorial MASSON.
67. Propiedades del aguacate. Online [www.botanical-online.com/aguacate.htm. consulta; 30 de diciembre del 2009.
68. Raloff, J. (1998) Unsaturated fats play yin-yang cancer role. Research reveals cancer protection from monounsaturated fats and enhanced risk from polyunsaturated fats. *Sci. News* [Online]: <http://www.findarticles.com>.
69. Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. 7a edición. Ed. EISEVIER. 2005. Pág.68.
70. Robertson, RP., Harmon, J., Tran, PO., Tanaka, Y., Takahashi, H. (2003) Glucose toxicity in β -cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*; 52: 581-587.

71. Roebuck, KA. (1999) Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription actors AP-1 and NF-kappaB. *Int. J. Mol. Med.* 4: 223-230.
72. Rubany G.M. (1986) Flow induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J. Physiol.*: 250: 1145-1150.
73. Rudic, R.D., Shesely, E.G., Maeda N., et al. (1998) Direct evidence for the importance of endothelium derived nitric oxide in vascular remodeling. *J. Clin Invest.*; 101 (4): 73-736.
74. Salas, J., López-Miranda, J., Jansen, S., Zambrana, J.L., Castro, P., Paniagua, JA., Blanco, A., López-Segura, F., Pérez Pérez, JA., y Pérez Jiménez F. (1999) La dieta rica en grasa monoinsaturada modificada de forma beneficiosa el metabolismo de los hidratos de carbón y la presión arterial. *Med. Clin.* 113(20):765-769.
75. Simmons, D.L., Botting, RM., and Hla, T. (2004) Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev.* 56: 387-437.
76. Simposio: función endotelial y enfermedad cardiovascular. Mecanismos potenciales e intervenciones. Factores involucrados en el mantenimiento de la función endotelial. *The American Journal of Cardiology* (1998; 3s).
77. Smyth, E.M., Burke, A., and FitzGerald, G.A. (2007) Autacoides derivados de lípidos: eicosanoides y factor activador plaquetario. En: Lurence L. Bruton, John S. Lazo, Keint L. Parker. *Goodman & Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica. Colombia; Laurence, Cap. 25, p. 664-665. (Mc Graw Hill; Undécima edición.)*
78. Taylor, SG., Weston, AH., (1988) Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a new endogenous inhibitor from the vascular endothelium. *Trends Pharmacol Sci.* 9:272-274.
79. Tilley, S., Coffman, T., Koller, M.B. (2001) Modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J. Clin. Invest.* 108(1):15-23.
80. Toborek, M. Barger, SW. Matson, MP. et al. (1996) Linoleic acid and TNF α cross-amplify oxidative injury and dysfunction of endothelial cells. *J. Lipid Res.* 37: 123-135.
81. Tsihlias, E.B.; Gibbs, S.L.; McBurney, M.I. and Wolever T. (2001) Monoinsaturated fatty acid diets improve glycemic tolerance through increased secretion of glucagon-like peptide-1. *Endocrinol.* 142: 1148-1155.
82. Vane, J.R., Anggard, E.E., Botting, R. (1990) Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl. Med.*; 323 (1): 27-36.
83. Vaughan, D. (1998) "Fibrinolytic balance, the renin-angiotensin system and atherosclerotic disease" *European Heart Journal*; 19 suppl. G; G976.

84. Velarde S., Prado Mercedes M., Rosario Carrizo T., Victoria Abregu A., Serafina Sánchez S. Evaluación de la disfunción endotelial en pacientes con diabetes tipo 2. Facultad de bioquímica, química y farmacia. Universidad Nacional de Tucumán. 2007.
85. Vita, J., Keaney, J., 2002. Endothelial Function: a Barometer for cardiovascular risk?. *Circulation*; 106(6): 640-2.
86. William, L., Isley, MD., and Marck, C., Molitch, M.D. (2005) DIABETES TIPO I. *The journal of Clinical Endocrinology & metabolism.* 9(1).
87. Williams, B. Baker, AQ. Gallacher, B. et al. (1995) Angiotensin II increases vascular permeability factor gene expression by human vascular smooth muscle cells. *Hypertension*; 125: 913-917.
88. Worral, NK. Chang, K. LeJeune, WS. et al. (1997) TNF α causes reversible in vivo systemic vascular barrier dysfunction via NO-dependent and independent mechanisms. *Am. J. Physiol.* 273: 2565-2574.
89. Xie, W., Chipman, J.G., Robertson, D.L., Erikson, R.L., and Simmons, D. L. (1991) *Pmc. Natl. Acad. Sci., USA* 88: 2692-2705.
90. Zhu, B.H., Guan, YY., Min, J., and He, H . (2001) Contractile responses of diabetic rat aorta to phenylephrine at different stages of diabetic duration. *Acta Pharmacol. Sin.* 22(5): 445-449.