



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

EFFECTO DEL ZUMO DE GRANADA SOBRE LA
ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PARAOXONASA 1
(PON1) EN RATONES CD-1 DIABETIZADOS Y
ALIMENTADOS CON UNA DIETA OBESIGÉNICA

TESIS

Que para obtener el título de
Licenciado (a) en Nutrición

P R E S E N T A

María Magdalena Martínez Pérez

Dirección de Tesis:

Dr. Gabriel Betanzos Cabrera



Pachuca de Soto, Hgo., Abril de 2010



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 134 del Reglamento de Control Escolar vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

“Efecto del Zumo de Granada Sobre la Actividad Enzimática de la Paraoxonasa (PON1) en Ratones CD-1 Diabetizados y Alimentados con una Dieta Obesogénica”.

Que para obtener el Título de Licenciado de Nutrición sustenta la Pasante

C. Ma. Magdalena Martínez Pérez

ATENTAMENTE
Pachuca, Hidalgo, 26 de Marzo del 2010
“Amor, Orden y Progreso”

PRESIDENTE	M. EN N.H. ZULI CALDERÓN RAMOS.
SECRETARIO	DR. LUIS DELGADO OLIVARES
PRIMER VOCAL	IBQ. ARACELI ORTIZ POLO.
SEGUNDO VOCAL	L. NUTR. ANA ROSA TORRES GRANILLO.
TERCER VOCAL	DR. GABRIEL BETANZOS CABRERA.
PRIMER SUPLENTE	DR. JAVIER VILLANUEVA SÁNCHEZ
SEGUNDO SUPLENTE	M. EN N.H. AMANDA PEÑA IRECTA.

AGRADECIMIENTOS

Dios gracias por permitirme llegar hasta donde estoy, por hacer mi corazón con un pedacito de ti. Por llenarme de bendiciones, salud, fortaleza, fe, esperanza y amor. Por depararme una gran misión, manos a la obra!!!

Debo agradecer de manera especial al Dr. Gabriel Betanzos Cabrera por confiarme la realización de esta tesis. Le agradezco también el haberme facilitado los medios para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta.

Quiero recordar también a todos los doctores que me apoyaron, por todos los conocimientos que compartieron conmigo y por su valioso tiempo dedicado a la realización de mi trabajo. Muchas gracias.

Para mis amigos, tengo solo palabras de agradecimiento, especialmente por aquellos momentos en los que me sentía desanimada, ha sido un camino largo y duro en el que, algunas veces, me olvide de la importancia de la convivencia. Sin embargo, son de quienes siempre he recibido palabras de aliento.

En especial, a mi mejor amiga que ha sido testigo de mis penas y alegrías durante ya tantos años, años que nos han conducido a rumbos diferentes, pero nunca olvida decir “cuando me necesites ahí estaré”.

Y, por supuesto, el agradecimiento más profundo y sentido va para mi familia. Sin su apoyo, colaboración e inspiración habría sido imposible llevar a cabo este difícil proceso. A mis Padres, por su ejemplo de lucha, valentía, capacidad, superación y honestidad; a mis Hermanos por enseñarme su tenacidad; por su paciencia y generosidad. Los AMO...

María Magdalena Martínez Pérez

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	II
ABREVIATURAS.....	III
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. MARCO TEÓRICO	
1.1 DIABETES	
1.1.1 Definición	1
1.1.2 Panorama epidemiológico.....	1
1.1.3 Clasificación etiológica.....	3
1.1.3.1 Diabetes tipo 1 (DT1).....	3
1.1.3.2 Diabetes tipo 2 (DT2).....	4
1.1.3.3 Otros tipos específicos de diabetes.....	5
1.1.3.4 Diabetes gestacional (DG).....	5
1.1.4 Factores de riesgo.....	7
1.1.5 Métodos y criterios de diagnóstico.....	7
1.1.5.1 Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG).....	8
1.1.5.2 Prediabetes.....	9
1.1.6 Tratamiento integral.....	9
1.1.7 Síndrome metabólico asociado a diabetes.....	10
1.1.7.1 Diagnóstico del síndrome metabólico.....	11

1.2 OBESIDAD

1.2.1	Definición.....	12
1.2.2	Panorama epidemiológico.....	13
1.2.3	Tipos y clasificación.....	14
1.2.3.1	Según el IMC.....	14
1.2.3.2	Según la distribución de grasa.....	15
1.2.3.3	Según la morfología del tejido adiposo.....	16
1.2.4	Valoración.....	16
1.2.5	Tratamiento integral.....	17
1.2.6	Alteraciones metabólicas de la obesidad.....	18

1.3 ATEROSCLEROSIS

1.3.1	Definición.....	22
1.3.2	Historia natural.....	22
1.3.3	Panorama Epidemiológico.....	26
1.3.4	Factores de riesgo.....	27
1.3.5	Dieta y metabolismo de las lipoproteínas.....	29
1.3.5.1	Glúcidos.....	30
1.3.5.2	Fibra dietética.....	30
1.3.5.3	Grasas.....	30
1.3.5.4	Colesterol.....	31

1.4 PARAOXONASA

1.4.1	Definición.....	33
1.4.2	Paraoxonasa 1.....	35
1.4.2.1	Determinantes de la actividad enzimática de la PON1.....	37
1.4.2.2	Factores que aumentan la actividad enzimática de la PON1.....	38

1.5 GRANADA ROJA (<i>Punica granatum L.</i>)	
1.5.1 Etimología.....	39
1.5.2 Origen y evolución.....	39
1.5.3 Morfología.....	40
1.5.4 Variedades.....	40
1.5.5 Producción.....	41
1.5.6 Composición química.....	42
1.5.7 Efectos benéficos.....	44
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	46
3. JUSTIFICACIÓN.....	48
4. OBJETIVOS	
4.1 Objetivo general.....	49
4.2 Objetivos específicos.....	49
5. HIPÓTESIS.....	49
6. METODOLOGÍA	
6.1 Diseño metodológico.....	50
6.2 Tipo de estudio.....	50
6.3 Población de estudio.....	51
6.4 Selección de la muestra.....	51
6.4.1 Criterios de inclusión.....	51
6.4.2 Criterios de exclusión.....	51
6.4.3 Criterios de eliminación.....	51
6.5 Variables	52
6.5.1 Variables dependientes.....	52
6.5.2 Variables independientes.....	52

6.6	Obtención de la muestra.....	52
6.7	Medición de parámetros bioquímicos.....	52
6.8	Medición de la actividad enzimática de la PON1 en suero sanguíneo.....	53
6.9	Análisis estadístico.....	53
7.	RESULTADOS	
7.1	Actividad PON1.....	54
7.2	Peso corporal.....	56
7.3	Indicadores bioquímicos.....	60
7.3.1	Glucosa.....	60
7.3.2	Colesterol total.....	62
7.3.3	Triglicéridos.....	65
7.4	Relación entre la actividad PON1 y las concentraciones de colesterol total.....	66
8.	DISCUSIÓN.....	67
9.	CONCLUSIONES.....	73
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
	ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatología del síndrome metabólico y de la resistencia a la insulina...	11
Figura 2. La obesidad asociada a dislipidemias.....	21
Figura 3. Desarrollo de la placa aterogénica.....	26
Figura 4. Metabolismo de las HDL y su papel protector frente a la oxidación de las LDL.....	32
Figura 5. Hidrólisis de compuestos organofosforados.....	36
Figura 6. Principales compuestos fenólicos de la granada.....	44
Figura 7. Diseño experimental.....	50
Figura 8. Actividad enzimática de la PON1 (nm/mLmin).....	55
Figura 9. Actividad paraoxonasa por grupos de estudio.....	56
Figura 10. Actividad de la PON1 en el grupo PJ tratado.....	57
Figura 11. Modelo animal.....	57
Figura 12. Peso corporal (gr).....	58
Figura 13. Comparación de peso (gr) entre grupos tratados.....	59
Figura 14. Glucosa (mg/dL).....	60
Figura 15. Comparación de las concentraciones de glucosa del grupo control con los grupos tratados.....	61
Figura 16. Concentraciones de glucosa sanguínea en los grupos tratados.....	62
Figura 17. Colesterol total (mg/dL).....	63
Figura 18. Colesterol total (mg/dL) entre el grupo tratado y PJ tratado.....	64
Figura 19. Niveles de triglicéridos sanguíneos (mg/dL).....	65
Figura 20. Agrupación de los niveles de triglicéridos sanguíneos (mg/dL) para los grupos tratados.....	66
Figura 21. Relación entre concentración de colesterol total y actividad de la PON1.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la diabetes con base en tipos.....	3
Tabla 2. Otros tipos específicos de diabetes.....	6
Tabla 3. Criterios para el diagnóstico de trastornos de la regulación de glucosa.....	9
Tabla 4. Criterios para el diagnóstico de SM.....	12
Tabla 5. Clasificación del sobrepeso y la obesidad mediante el IMC (OMS).....	15
Tabla 6. Clasificación del sobrepeso y la obesidad mediante el IMC, el perímetro de la cintura y el riesgo asociado de enfermedad.....	17
Tabla 7. Clasificación de las lesiones aterosclerosas.....	23
Tabla 8. Características de las principales lipoproteínas.....	29
Tabla 9. Principales características funcionales de la PON1, PON2 y PON3.....	34
Tabla 10. Producción de granada por Distritos Hidalguenses.....	41
Tabla 11. Contenido por 100 gramos de porción comestible.....	43
Tabla 12. Actividad paraoxonasa (nm/ mLmin).....	54
Tabla 13. Colesterol total (mg/dL).....	63

ABREVIATURAS

FID: Federación Internacional de Diabetes

DM: Diabetes mellitus

ADA: Asociación Americana de Diabetes, por sus siglas en inglés

OMS: Organización Mundial de la Salud

GAA: Glucemia en ayuno alterada

ITG: Intolerancia a la glucosa

ECV: Enfermedades cardiovasculares

DT1: Diabetes tipo 1

DT2: Diabetes tipo 2

DG: Diabetes gestacional

LADA: Diabetes autoinmune latente del adulto, por sus siglas en inglés

GAD 65: Antidescarboxilasa de ácido glutámico

IA2: Antitirosina fosfatasa

HLA: Antígenos leucocitarios humanos, por sus siglas en inglés

PTOG: Prueba de tolerancia oral a la glucosa

IMC: Índice de Masa Corporal

ALAD: Asociación Latinoamericana de Diabetes

OPS: Organización Panamericana de la Salud

RCV: riesgo cardiovascular

HAS: hipertensión arterial sistémica

SM: Síndrome metabólico

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

IDL: Lipoproteínas de intermedia densidad

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

c-HDL: colesterol HDL

c-LDL: colesterol LDL

EGIR: Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina, por sus siglas en ingles

NCEP-ATP III: Programa Nacional de Educación Colesterol Adultos Panel de Tratamiento III, por sus siglas en inglés

AACE: Colegio Americano de Endocrinología Clínica, por sus siglas en ingles

TG: Triglicéridos

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

LPL: Lipoproteína-lipasa

RNA_m: Ácido ribonucleico mensajero

PTEC: Proteína de transferencia de esteres de colesterol

LH: Lipasa hepática

Apo: Apolipoproteína

Apo A-I: Apolipoproteína A-I

Apo A-II: Apolipoproteína A-II

Apo C-III: Apolipoproteína C-III

Apo B-100: Apolipoproteína B-100

Apo J: Apolipoproteína J

LpA-1: partículas de apolipoproteína A-I

EIC: enfermedad isquémica del corazón

IM: infarto al miocardio

AGS: ácidos grasos saturados

LDL-r: Receptor hepático de lipoproteínas de baja densidad

ROS: Especies reactivas de oxígeno

MEC: Matriz extracelular

GAG: Polisacáridos glucosaminoglucanos

PG: Complejos proteoglucanos

PAF-AH: Factor activador de las plaquetas-acetilhidrolasa

MMP: Enzimas metaloproteinasas

VCAM-1 o ICAM-1: molécula de adherencia vascular de la célula-1

MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos -1

RSN: especies reactivas de nitrosativas

FxR: receptor Farnesoide x

FATP: proteínas transportadoras de ácidos grasos

CLA-1: proteína-II integral de la membrana lisosomal Análogo-1

SR-B1: Receptor Scavenger clase B tipo 1

ACAT: Acil Colesterol Acil Transferasa

SRP: partícula de reconocimiento de la señal

I-BAPS: Proteína ligante de sales biliares

PON: Paraoxonasas

PON1: Paraoxonasa 1

PON2: Paraoxonasa 2

PON3: Paraoxonasa 3

PAF: Factor activador de plaquetas, por sus siglas en inglés

CEOOH: Esteres de colesterol peroxidados

EAC: Enfermedad arterial coronaria

OEIDRUS: Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable

D.S.: desviación estándar

ANOVA: análisis de varianza

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, por sus siglas en inglés

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, por sus siglas en inglés

PJ: jugo de granada, por sus siglas en inglés

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

RESUMEN

La Paraoxonasa 1 (PON1) es una esterasa dependiente de calcio asociada a las lipoproteínas de alta densidad (HDL), capaz de hidrolizar compuestos organofosforados, así como derivados específicos de colesterol y/o fosfolípidos oxidados limitando la acumulación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la matriz extracelular, por lo que probablemente participa en la inhibición y/o prevención del desarrollo de aterosclerosis, consecuencia común de la diabetes y la obesidad, enfermedades con mayor morbi-mortalidad en países industrializados y en vías de desarrollo. Diversos reportes han demostrado que el jugo de granada estimula la actividad de la PON1 en plasma. Se cree que este efecto es debido a antocianinas y taninos presentes en este fruto. Sin embargo, no se ha probado tal efecto en un modelo animal diabetizado y alimentado con dieta proaterogénica, por lo que, el presente estudio tuvo como objetivo, determinar el efecto del jugo de granada sobre la actividad enzimática de la PON1 en ratones CD-1 diabetizados y alimentados con una dieta aterogénica. Los resultados muestran que el jugo de granada disminuyó paulatina y significativamente ($p < 0.05$) los niveles de glucosa y colesterol, asimismo la actividad PON1 fue significativamente alta en comparación con el grupo control ($p = 0.003$). Los niveles de triglicéridos no se diferenciaron significativamente ($p > 0.05$) y además se observó una correlación positiva entre los niveles de colesterol total y actividad sérica de la PON1. Estos resultados fortalecen la asociación entre los antioxidantes de la dieta con la actividad PON1 y la reducción del estrés oxidativo. Por lo que la granada (un fruto rico en antioxidantes) puede ser un alimento útil en el tratamiento de la diabetes y/o inhibición de la aterosclerosis.

Palabras clave: diabetes, obesidad, aterosclerosis, PON1, dieta aterogénica, jugo de granada.

ABSTRACT

Paraoxonase 1 (PON1) is a calcium-dependent esterase associated with high density lipoproteins (HDL), capable of hydrolyzing organophosphorus compounds and specific derivatives of cholesterol and/ or oxidized phospholipids, preventing the accumulation of low density lipoproteins (LDL) in the extracellular matrix, and probably playing an important role in the inhibition and/ or prevention in the development of atherosclerosis, common complication of diabetes and obesity, diseases with high morbidity and mortality in industrialized and undeveloped countries. Various reports have demonstrated that pomegranate juice stimulates the activity of PON1 in plasma. It is believed that this effect is due to anthocyanins and tannins present in this fruit. However, this effect has not been tested in a diabetized model and fed with proatherogenic diet. Thus, the objective of the present work was to determine the effect of pomegranate juice on the enzymatic activity of PON1 in diabetized CD1 mice and fed an atherogenic diet. The results show that pomegranate juice decreased gradual and significantly glucose and cholesterol levels ($p < 0.05$), PON1 activity was significantly higher compared to control group ($p = 0.003$). Triglyceride levels did not differ significantly ($p > 0.05$) and also showed a positive correlation between levels of total cholesterol and serum activity of PON1. These results support the association of PON1 activity with dietary antioxidants and oxidative stress reduction. Thus, pomegranate juice (fruit rich in antioxidants) can be a useful food in the treatment of diabetes and/or inhibition in the development of atherosclerosis.

Keywords: diabetes, obesity, atherosclerosis, PON1, atherogenic diet, pomegranate juice.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 DIABETES MELLITUS

1.1.1 Definición

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades caracterizadas por hiperglucemia, ocasionada por defectos en la secreción de la insulina, la acción de la insulina o ambas, que está asociada al daño a largo plazo, disfunción o falla de diversos órganos especialmente los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos.⁽¹⁾

Diabetes significa fluir a través de un sifón. Hay registros de ella desde el año 1550 a.C. (papiros de ebers). Este papiro describe enfermos que adelgazan, con hambre continua, orinan en abundancia y enorme sed.⁽²⁾

El término mellitus (que significa dulce) fue agregado varios siglos después (siglo XVII de nuestra era), gracias a la curiosidad de un médico, Thomas Willis, que probó la orina de un paciente.⁽²⁾

Thomas Cawley fue el primero en afirmar que el origen de la diabetes estaba en el páncreas, esto quedó comprobado cuando Oskar Minskowski y Josef von Mering extirparon el páncreas en un animal y descubrieron que tenía los síntomas normales de la diabetes.⁽²⁾

1.1.2 Panorámica epidemiológico

Por el número de personas afectadas, la diabetes representa un problema de salud pública creciente en todo el mundo. Según cifras reportadas por la Federación Internacional de Diabetes (FID)⁽³⁾ actualmente afecta a más de 246 millones de personas y se espera que alcance los 333 millones en 2025. El aumento constituirá 40% en los países desarrollados y 70% en los países en vías de desarrollo.⁽³⁾

Aunque la diabetes es una de las pocas enfermedades que afecta más al sexo femenino. En promedio los hombres con diabetes mueren a una edad más temprana que las mujeres (67 vs 70 años respectivamente).⁽³⁾

Estimaciones de la FID describen que México ocupa el noveno lugar de diabetes en el mundo.⁽³⁾ La población de personas con dicho padecimiento fluctúa entre los 6.5 y los 10 millones (prevalencia nacional de 10.7% en personas entre 20 y 69 años). De este gran total, 2 millones de personas no han sido diagnosticadas.⁽⁴⁾

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 mal control y la mortalidad por diabetes continúan en aumento.⁽³⁾

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. Se tiene además 3 veces más riesgo de cardiopatía.⁽⁴⁾

Actualmente, la diabetes también es la tercera causa de muerte (17.17%). En personas de 40-59 años, una de cada cuatro muertes se debe a complicaciones de la diabetes. Y una de cada tres muertes en México reporta diabetes como causa secundaria.^(3,4)

Se estima que en los próximos años México podría ocupar el séptimo lugar de países con diabetes. Casi 12 millones de mexicanos se verían afectados y 4 millones más sufrirían de intolerancia a la glucosa.⁽⁴⁾

1.1.3 Clasificación etiológica

La clasificación de la diabetes se basa fundamentalmente en su etiología y características fisiopatológicas, pero adicionalmente incluye la posibilidad de describir la etapa de su historia natural en la cual se encuentra la persona.⁽⁵⁾

Los nuevos criterios para el diagnóstico y clasificación de la diabetes fueron desarrollados casi simultáneamente por un comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA)⁽⁵⁾ y por un comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS).⁽⁶⁾ Por lo que se incluyen 4 clases clínicas (Tabla 1).

También existen dos categorías referidas como prediabetes: las cuales son glucemia en ayuno alterada (GAA) y/o intolerancia a la glucosa (ITG). Estas categorías no son entidades clínicas, sino factores de riesgo para desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares (ECV).^(5,7)

Tabla 1. Clasificación de la diabetes con base en tipos

Diabetes tipo 1 <ul style="list-style-type: none">• Autoinmune• Idiopática
Diabetes tipo 2
Otros tipos específicos de diabetes
Diabetes gestacional

Fuente: *Diabetes Care*. 2005; 28(1):S37-S42.⁽⁵⁾

1.1.3.1 Diabetes tipo 1 (DT1)

Esta forma de diabetes es responsable de 5-10% de casos. Se caracteriza por un defecto absoluto de la secreción de insulina por las células β de los islotes pancreáticos. En la mayoría de los casos, esta destrucción de las células es mediada

por autoinmunidad, pero existen casos en los que no hay evidencia de proceso autoinmune, siendo, por tanto, referida como idiopática.^(5,7)

Sus primeras manifestaciones clínicas comienzan a aparecer desde la infancia, la adolescencia o edad adulta joven, pero existe una variedad que afecta a mayores de edad, caracterizada por una evolución larvada, donde el avance hacia el estado de insulinoddependencia ocurre lentamente. A esta forma del adulto se le conoce como diabetes autoinmune latente del adulto (LADA).⁽⁸⁾

Los marcadores de autoinmunidad son los anticuerpos: antiinsulina, antidescarboxilasa de ácido glutámico (GAD 65) y antitirosina fosfatasa (IA2 y IA2B).⁽⁸⁾ esos anticuerpos pueden estar presentes meses o años antes del diagnóstico clínico.

Además de los componentes autoinmunes, la DT1 muestra la fuerte asociación con ciertos genes de los antígenos leucocitarios humano (HLA), alelos que pueden ser predisponentes o protectores para el desarrollo de la enfermedad.⁽⁸⁾

1.1.3.2 Diabetes tipo 2 (DT2)

Entre 90-95% de los casos con diabetes tienen la variedad de DT2. El defecto fundamental es la resistencia a la acción glucometabólica de la insulina a nivel del músculo esquelético, que al paso de los años se combina con una disminución progresiva de la secreción de insulina y el empeoramiento tardío de la resistencia a la acción de la insulina en el tejido adiposo y en el hígado.^(5,7)

Desde el punto de vista fisiopatológico, la DT2 se puede subdividir en: predominantemente insulinorresistente con deficiencia relativa de insulina y predominantemente con un defecto secretor de la insulina con o sin resistencia a la insulina.⁽⁸⁾

1.1.3.3 Otros tipos específicos de diabetes

El tercer grupo lo conforma un número considerable de patologías específicas donde se incluyen los casos cuyo defecto básico es conocido y puede ser identificado. ^(5,7)

Tabla 2.

1.1.3.4 Diabetes gestacional (DG)

Esta se define como una alteración del metabolismo de los hidratos de carbono, de severidad variable, que se inicia o se reconoce por primera vez durante el embarazo.⁽⁷⁾

Los cambios en la resistencia a la insulina durante el embarazo se relacionan con la concentración creciente de las hormonas placentarias como: lactógeno placentario, hormona de crecimiento, progesterona, cortisol y prolactina. Estas hormonas desaparecen inmediatamente después del parto.^(9,10)

Otras de las causas a las que se atribuye el desencadenamiento de la DG, son los péptidos producidos por el tejido adiposo desempeñando un papel central en la resistencia a la insulina. Se observan concentraciones bajas de adiponectina plasmáticas y concentraciones de resistina acrecentadas cuando se induce obesidad por aumento en el consumo de alimentos.^(9,10)

Durante el postparto algunos factores como la dieta y la exposición a antígenos pueden activar el sistema autoinmunitario repercutiendo el equilibrio metabólico y estado funcional de las células β del páncreas. Por ello, las pacientes deben ser evaluadas de cuatro a seis semanas después del parto y reclasificar como diabetes, GAA, ITG o euglucemia. ^(5,7)

Tabla 2. Otros tipos específicos de diabetes

Defectos genéticos de la función de la célula beta	Defectos del cromosoma 20, HNF-4alfa (antes MODY 1), del cromosoma 7, glucoquinasa (antes MODY 2), del cromosoma 12, HNF-1alfa (antes MODY 3), del DNA mitocondrial y otros.
Defectos genéticos en la acción de la insulina	Resistencia a la insulina tipo A, leprechaunismo, síndrome de Rabson-Mendenhall, diabetes lipoatrófica y otros.
Enfermedades del páncreas exocrino	Pancreatitis, trauma del páncreas, pancreatectomía, neoplasia del páncreas, fibrosis quística, hemocromatosis, pancreatopatía fibrocalculosa y otros.
Endocrinopatías	Acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma, hipertiroidismo, somatostinoma, aldosteronoma y otros.
Inducida por drogas o químicos	Vacor, pentamidina, ácido nicotínico, glucocorticoides, hormonas tiroideas, diazóxido, agonistas betaadrenérgicos, tiazidas, fenitoína, alfa-interferón y otros.
Infecciones	Rubéola congénita, citomegalovirus y otros.
Formas poco comunes de diabetes mediada inmunológicamente	Síndrome del "hombre rígido" ("stiff-man syndrome"), anticuerpos contra el receptor de la insulina y otros.
Otros síndromes genéticos algunas veces asociados con diabetes	Síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome de Wolfram, ataxia de Friedreich, corea de Huntington, síndrome de Lawrence Moon Beidel, distrofia miotónica, porfiria, síndrome de Prader Willi y otros.

Fuente: *Diabetes Care*. 2005; 28(1):S37-S42.⁽⁵⁾

1.1.4 Factores de riesgo

La glucemia en ayunas es la prueba más sencilla para el tamizaje oportuno de diabetes en personas asintomáticas. En estas circunstancias, se debe tener en consideración factores adicionales como:^(5,6)

1. Edad (>45 años).
2. Raza o grupo étnico (Afro - americano, hispano, nativo-americano, asiático y originario de las Islas del Pacífico).
3. Familiares diabéticos en primer grado de consanguinidad.
4. Estilo de vida (sedentarismo, tabaquismo y consumo excesivo de alcohol).
5. Índice de Masa Corporal (IMC) > 25 kg/m² mas obesidad abdominal.
6. Dislipidemias (TG > 250 mg/dL y/o HDL < 35 mg/dL).
7. Hipertensión arterial (>130/85 mmHg) con otro factor de riesgo asociado.
8. Antecedentes obstétricos de DG y/o de hijos macrosómicos (peso al nacer > 4 Kg).
9. Síndrome de ovario poliquístico.

1.1.5 Métodos y criterios de diagnóstico

En junio de 1997 el Comité de Expertos en el diagnóstico y clasificación de la diabetes pertenecientes a la ADA examinó la base para el diagnóstico de la diabetes.⁽¹¹⁾ Pero en el 2003, estas pautas se actualizaron respecto al diagnóstico de ITG y GAA. Se recomienda utilizar cualquiera de los siguientes criterios:

1. Síntomas de diabetes (poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida inexplicable de peso) más una glucemia casual medida en plasma venoso que sea ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L). Casual se define como cualquier hora del día sin relación con el tiempo transcurrido desde la última comida.^(5,7)

2. Glucemia en ayunas medida en plasma venoso que sea ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L). En ayunas se define como un período sin ingesta calórica de por lo menos ocho horas. ^(5,7)
3. Glucemia medida en plasma venoso que sea ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) dos horas después de una carga de glucosa durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG). ^(5,7)

Actualmente, un comité internacional de expertos, pertenecientes ADA, a la FID y a la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD, por su siglas en inglés) recomendaron que el examen de hemoglobina glucosilada A1C (HbA1C) sea utilizada como una nueva prueba para el diagnóstico de la diabetes. Esta nueva recomendación está basada en la relación existente entre la exposición glucémica a largo plazo y las complicaciones. ⁽¹²⁾

1. Una concentración de HbA1C $\geq 6.5\%$ debe utilizarse para el diagnóstico de diabetes. ⁽¹²⁾
2. Por otra parte, se señala que para la identificación de personas con un alto riesgo de presentar diabetes, un nivel de HbA1C $\geq 6\%$ pero menor al 6.5% es el indicador de mayor riesgo de desarrollar diabetes. ⁽¹²⁾

1.1.5.1 Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG)

Para la realización de la PTOG la persona debe ingerir 75 g de glucosa diluidos en 300 mL de agua a temperatura ambiente, en un período no mayor de cinco minutos. Es preferible evitar cambios en el estilo de vida habitual durante los tres días precedentes a la prueba. ^(5,8)

En niños la PTOG rara vez se utiliza, pero cuando se requiere la carga de glucosa se calcula con base en 1.75 g/Kg de peso sin exceder 75 g en total. ^(5,8)

1.1.5.2 Prediabetes

Para algunas Asociaciones como la ADA, los nuevos criterios para diagnosticar GAA tienen la sensibilidad y la especificidad suficiente para incluir también a las personas con ITG (Tabla 3), por lo que se hace innecesario practicar una PTOG. Sin embargo, la OMS y la FID recomiendan que a toda persona con GAA se le practique una PTOG para establecer si ya tiene ITG o inclusive diabetes.^(5,6,7)

Tabla 3. Criterios para el diagnóstico de trastornos de la regulación de la glucosa

Diagnóstico	Glucemia ayunas		Glucemia PTOG	
	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L
Regulación normal	< 100	< 5.6	< 140	< 7.8
Glucemia de ayuno alterada (GAA)	100 – 125	5.6 – 6.9	No aplica	
Intolerancia a la glucosa (ITG)	No aplica		140-199	7.8-11

Fuente: OPS, Guías de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) de diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes tipo 2, 2008

1.1.6 Tratamiento integral

El tratamiento de la diabetes es multimodal, por tiempo indefinido y con ajustes terapéuticos que van a depender de la evolución, del tipo de diabetes, de las condiciones asociadas y de las cifras de glucemia. La terapéutica es múltiple e incluye: alimentación, ejercicio, antidiabéticos orales, insulina, y desde fecha reciente, medicamentos que favorecen la acción de la insulina.⁽¹³⁾ Cada uno de los tratamientos mencionados tiene indicaciones precisas y no excluyentes.

Los objetivos del tratamiento de la diabetes son: mejorar la calidad de vida del paciente y su familia, lograr un control metabólico normal, eliminar los síntomas de la hiperglucemia, evitar las complicaciones agudas (cetoacidosis diabética, hipoglucemia, estado hiperosmolar no cetótico), ayudar al paciente a alcanzar y mantener un peso saludable, disminuir los valores de riesgo cardiovascular (RCV) y prevenir la aparición de complicaciones crónicas.⁽¹³⁾

1.1.7 Síndrome metabólico asociado a diabetes

La resistencia a la insulina es la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones en los órganos, en especial el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. Esta alteración condiciona hiperinsulinemia e hiperglucemia, binomio que se asocia a un incremento significativo de la morbi-mortalidad cardiovascular, relacionado a hipertensión arterial sistémica (HAS), obesidad y diabetes, todas vinculadas fisiopatológicamente y que en su conjunto se denomina síndrome metabólico (SM).⁽¹⁴⁾

El exceso de los ácidos grasos circulantes derivados de tejido adiposo visceral, en hígado, aumenta la producción de glucosa, triglicéridos (TG) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), asociándose a la disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y a la elevación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), a lo cual se le denomina triada lipídica.⁽¹⁵⁾ todo este proceso se relaciona con el desarrollo de los cambios de la tolerancia a la glucosa, la hipertensión, la dislipidemia, el desarrollo proinflamatorio-protrombótico y la disfunción endotelial.⁽¹⁵⁾

Figura 1.

Así, se propone el concepto unitario de padecimiento, donde la disfunción endotelial íntimamente relacionada a la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensadora, actúan en tándem al promover el estrés oxidativo y la aterosclerosis, mismo que a su vez darán lugar a diversos desenlaces clínicos, tanto cardiovasculares como metabólicos.⁽¹⁴⁾

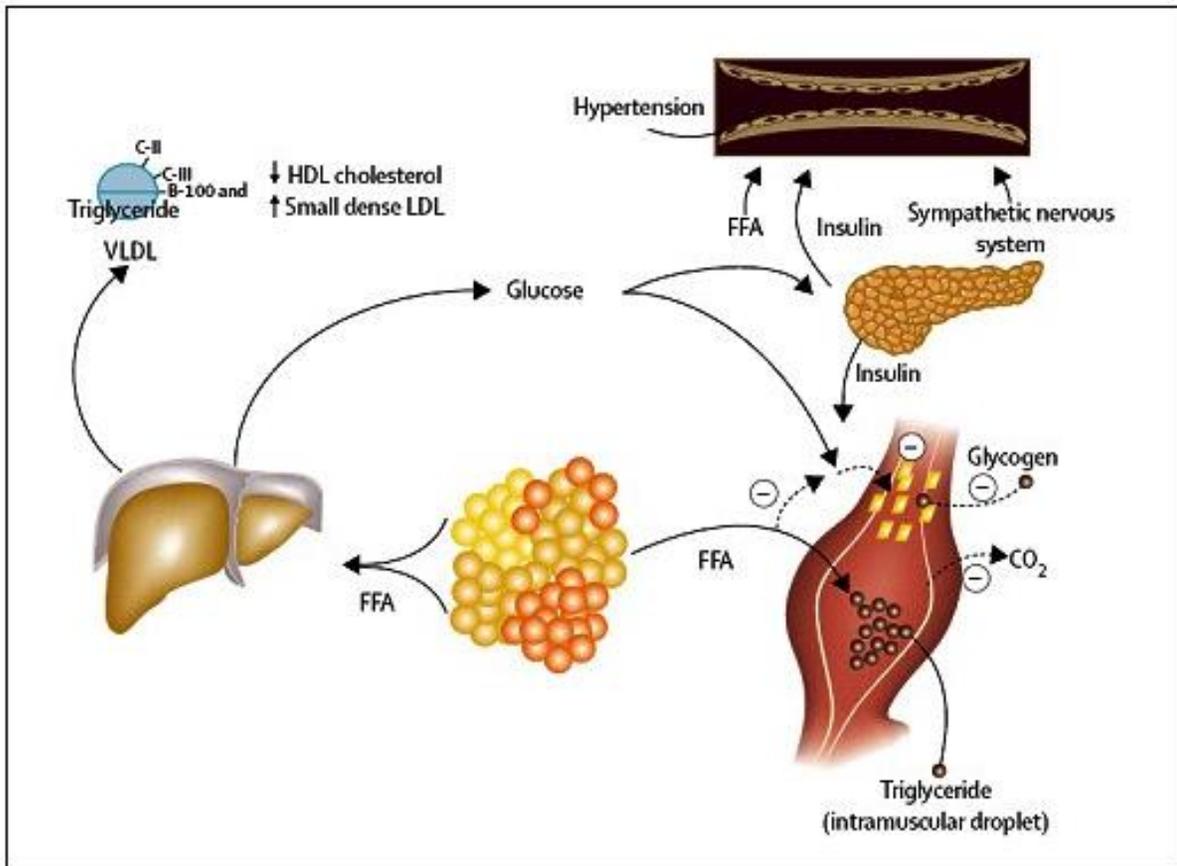


Figura 1. Fisiopatología del síndrome metabólico y de la resistencia a insulina. Los ácidos grasos libres (FFA) aumentan la producción hepática de glucosa y triglicéridos, además de la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lo que explica la dislipidemia aterogénica que caracteriza a este síndrome. Se produce así mismo, una disminución de la lipoproteínas de alta densidad (HDL), que es la molécula que devuelve el colesterol al hígado (transporte reverso), y aumentan las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Por otro lado, estos ácidos grasos libres originan resistencia a la acción periférica de la insulina y aumentan la insulina plasmática, y ésta a su vez, actúa en el músculo esquelético disminuyendo la formación de glucógeno y aumentando el depósito intramuscular de triglicéridos. Además, la hiperinsulinemia produce retención de sodio y agua y activación del sistema nervioso simpático, favoreciendo al desarrollo de hipertensión arterial. C-II= Apo C-II, C-III= Apo C-III, CO₂= Dioxido de carbono. (Eckel R. *The Lancet*, 2005;365:1415)

1.1.7.1 Diagnóstico del síndrome metabólico

En la tabla 4, se señalan los principales criterios para el diagnóstico del SM, propuesto recientemente por la FID con la participación de expertos que colaboraron en la elaboración de las definiciones previas como la de la OMS, del Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR por sus siglas en inglés) y del Programa Nacional de Educación Colesterol Adultos Panel de Tratamiento III (NCEP-ATP-III por sus siglas en inglés).⁽¹⁴⁾

Tabla 4. Criterios para el diagnóstico de SM

Característica	OMS	NCEP-ATPIII	AACE	EGIR	FID
Hipertensión	TA > 140/90 mmHg	TA > 130/85 mmHg	TA > 130/85 mmHg	TA > 140/90 mmHg	TA > 130/85 mmHg
Dislipidemia	TG > 150mg/dL c-HDL (mg/dL) ♂ < 35 ♀ < 39	TG > 150 mg/dL c-HDL (mg/dL) ♂ < 40 ♀ < 50	TG >150 mg/dL	TG > 150mg/dL c-HDL (mg/dL) < 40	TG > 150mg/dL c-HDL (mg/dL) ♂ < 40 ♀ < 50
Obesidad	IMC 30kg/m ² RCC ♂ > 0,9 ♀ > 0,85	Cintura ♂ > 102 cm ♀ > 88 cm		Cintura ♀ > 80 cm ♂ >94 cm	La circunferencia depende de la etnia
Hiperglicemia	DT2 e ITG En PTOG	Glucemia en ayuno > 100 mg/dL	Glucemia en ayuno 110- 125mg/dL y PTOG > 140 mg/dL	Glucemia en ayuno > 110mg/dL	Glucemia en ayuno > 100mg/dL y DT2
Otros	Microalbuminuria > 20mcg/min			Hiperinsulinemia	

OMS: Organización Mundial de la Salud; NCEP-ATP III: National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III; AACE: American College of Clinical Endocrinology; EGIR: European Group for the Study of Insulin Resistance; FID: Federación Internacional de Diabetes; TA: tensión arterial; TG: triglicéridos; c-HDL: colesterol en lipoproteína de alta densidad; IMC: índice de masa corporal; RCC: relación cintura/cadera; DT2: diabetes tipo 2; PTOG: prueba de tolerancia a la glucosa; ♂: sexo masculino; ♀: sexo femenino. ⁽¹⁴⁾

1.2 OBESIDAD

1.2.1 Definición

La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial que se desarrolla a partir de la interacción de la influencia de factores sociales, conductuales, psicológicos, metabólicos, celulares y moleculares. En términos generales, se define como el exceso de grasa en relación con el peso. ⁽¹⁶⁾

La OMS menciona que aunque los términos de sobrepeso y obesidad se usan recíprocamente, el sobrepeso se refiere a un exceso de peso corporal comparado con la talla, mientras que la obesidad se refiere a un exceso de grasa corporal. En poblaciones con un alto grado de adiposidad, el exceso de grasa corporal está altamente correlacionado con el peso corporal. Por esta razón el IMC es una medición válida y conveniente de adiposidad. El IMC se calcula al dividir el peso en kilogramos sobre el cuadrado de la talla en metros (kg/m²). Un IMC > 25 kg/m² se define como sobrepeso, y un IMC > 30 kg/m² como obesidad.⁽¹⁷⁾

1.2.2 Panorama epidemiológico

El sobrepeso y la obesidad han sufrido un crecimiento rápido en todas las regiones urbanizadas y están afectando a niños y adultos por igual. La OMS anunció que existen en el mundo más de 1000 millones de personas con sobrepeso de los cuales aproximadamente 300 millones padecen obesidad.⁽¹⁸⁾ Y que esta cifra aumentará a 1500 millones de personas para el año 2015 si se mantiene la tendencia actual.⁽¹⁸⁾

En México, la información más reciente acerca del estado de nutrición de la población es proporcionada por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006.⁽¹⁹⁾

La prevalencia nacional para sobrepeso y obesidad en niños de 5 – 11 años, es alrededor de 26% para ambos sexos, 26.8% en niñas y 25.9% en niños, lo que representa alrededor de 4 158 800 escolares en el ámbito nacional con sobrepeso u obesidad. ⁽¹⁹⁾

De acuerdo con los resultados de la ENSANUT, 1 de cada 3 hombres o mujeres adolescentes tiene sobrepeso u obesidad. Esto representa alrededor de 5 757 400 adolescentes en el país. ⁽¹⁹⁾

En el caso de los adultos, la prevalencia de sobrepeso es más alta en hombres (42.5%) que en mujeres (34.7%); en cambio, la prevalencia de obesidad fue mayor en mujeres (34.5%) que en hombres (24.2%). Al sumar las prevalencias de 71.9% de las mujeres mayores de 20 años de edad (24 910 507 mujeres en todo el país) y 66.7% de los hombres (representativos de 16 231 820 hombres) tienen prevalencias combinadas de sobrepeso y obesidad.⁽¹⁹⁾

La prevalencia de sobrepeso, pero especialmente la de obesidad, tienden a incrementarse con la edad hasta los 60 años; entre las edades de 60 y más de 80 años la tendencia de ambas condiciones disminuyó, tanto en hombres como en mujeres.⁽¹⁹⁾

1.2.3 Tipos y clasificación

El exceso de grasa corporal puede localizarse indistintamente en todo el cuerpo, lo que implica que un mismo contenido de grasa corporal, puede distribuirse de manera diferente.

En función de los aspectos etiológicos la obesidad primaria o exógena representa del 90-95% de los casos. Está relacionada con el desequilibrio entre la ingestión de alimentos y el gasto energético.⁽²⁰⁾

La obesidad secundaria o endógena se deriva como consecuencia de determinadas enfermedades (hipotiroidismo, enfermedad de Cushing, entre otras) que provocan un aumento de la grasa corporal y representa el 5-10% de los casos.⁽²⁰⁾

1.2.3.1 Según el IMC

La OMS ha propuesto una clasificación del grado de obesidad utilizando el IMC como criterio.⁽¹⁷⁾ (Tabla 5)

Tabla 5. Clasificación del sobrepeso y la obesidad mediante el IMC (OMS)

CLASIFICACIÓN	TIPO DE OBESIDAD Según IMC	IMC Kg/m ²
Bajo peso		< 18.5
Normal		18.5 – 24.9
Sobrepeso		25 – 29.9
Obesidad	Grado I	30 – 34.9
	Grado II	35 – 39.9
Obesidad mórbida	Grado III	> 40

Fuente: Adaptada de Preventing and managing the global epidemic of obesity. Report of the World Health Organization Consultation of Obesity. Ginebra: WHO; 1998. En: national Institute of Health.⁽¹⁷⁾

1.2.3.2 Según la distribución de grasa

La obesidad androide o abdominal donde el exceso de grasa se localiza preferentemente en la cara, el cuello, el tórax y la parte superior del abdomen. Se asocia a un mayor riesgo de padecer dislipidemias, diabetes, ECV y mortalidad en general.⁽²¹⁾

La obesidad ginecoide o periférica, es la cual predomina básicamente en la cadera, los muslos, los glúteos y el abdomen inferior. Este tipo de distribución se relaciona principalmente con problemas de retorno venoso en las extremidades inferiores (varices) y con artrosis de rodillas.⁽²¹⁾ Y la obesidad de distribución homogénea, es aquella en la que el exceso de grasa no predomina en ninguna zona del cuerpo.

1.2.3.3 Según la morfología del tejido adiposo

Según la morfología del tejido adiposo, la obesidad se clasifica en hiperplásica, hipertrófica y mixta. La hiperplásica se caracteriza por el aumento del número de células adiposas (adipocitos). La hipertrófica es propia de los adultos, se caracteriza por el aumento del volumen de los adipocitos. Y la mixta es la asociación de la obesidad hiperplásica e hipertrófica.⁽²¹⁾

1.2.4 Valoración

En la obesidad como en cualquier otra enfermedad es imprescindible realizar una historia clínica completa donde se haga hincapié en los antecedentes familiares, las posibles causas desencadenantes, el comienzo y la evolución de la obesidad, tratamientos farmacológicos y en las enfermedades relacionadas con la acumulación adiposa.⁽¹⁶⁾

Es importante conocer el entorno relacionado con los hábitos de alimentación, la actividad física (cotidiana y programada) y el estilo de vida puesto que son datos imprescindibles para el posterior tratamiento de la obesidad.⁽¹⁶⁾

Para la valoración del sobrepeso y la obesidad se recomienda el empleo de la antropometría, considerando el peso, la talla, las circunferencias corporales, los pliegues cutáneos, según la edad y el sexo. Actualmente, existen técnicas para medir la composición corporal, la masa grasa y la distribución del tejido adiposo.

Actualmente el método más usado como parámetro de obesidad es el IMC, complementado por la medición de la circunferencia de cintura, según la OMS los parámetros de riesgo para las mujeres es una circunferencia > 85 cm y para los hombres una circunferencia > 90 cm que sirven como indicador pronóstico de RCV.⁽²²⁾ (Tabla 6).

Tabla 6. Clasificación de la obesidad y el sobrepeso mediante el IMC, el perímetro de la cintura y el riesgo asociado de enfermedad

CLASIFICACIÓN	TIPO DE OBESIDAD	IMC	RIESGO DE ENFERMEDAD ^a EN RELACIÓN CON EL PESO Y EL PERÍMETRO DE CINTURA NORMALES	
	Según IMC	Kg/m ²	Hombres ≤ 102 cm Mujeres ≤ 88 cm	Hombres > 102 cm Mujeres > 88 cm
Bajo peso		<18.5	----	----
Normal		18.5 – 24.9	----	----
Sobrepeso		25.0 – 29.9	Aumentado	Alto
Obesidad	I	30.0 – 34.9	Alto	Muy alto
	II	35.0 – 39.9	Muy alto	Muy alto
Obesidad extrema	III	>40	Extremadamente alto	Extremadamente alto

^a riesgo de padecer Diabetes Mellitus tipo 2, Hipertensión y Enfermedad Cardiovascular. El perímetro de cintura aumentado puede ser un marcador para un riesgo mayor incluso en personas con peso normal. En: National Institute of Health, 1998.⁽²²⁾

1.2.5 Tratamiento integral

Como la obesidad es una enfermedad de etiología multifactorial compleja el abordaje terapéutico no puede limitarse a un solo aspecto y siempre debe incluir la modificación de hábitos de alimentación, la actividad física, los aspectos psicológicos y en algunos casos la terapia farmacológica y/o la cirugía.⁽²³⁾

La decisión final dependerá de los resultados de la evaluación individual de cada paciente con respecto al tipo y grado de obesidad que padece y de los factores de riesgo o comorbilidades asociados. Además de apreciar la situación social y económica del individuo.

El objetivo principal del tratamiento debe ser la reducción substancial de peso en un período prolongado; se recomienda como objetivo inicial la pérdida del 10% del peso basal a un ritmo de 0.5 -1.0 Kg/ semana.⁽²³⁾

1.2.6 Alteraciones metabólicas de la obesidad

Las razones principales que explican la heterogeneidad metabólica apreciada en la obesidad dependen de la cantidad de grasa total y de la distribución corporal de la misma. La obesidad, favorece la resistencia a la insulina, la hipertensión arterial sistémica, la hiperglucemia y la dislipidemia caracterizada por la elevación de TG, producción de partículas de LDL densas y pequeñas y reducción de las HDL.⁽²⁴⁾

La sobreproducción hepática de VLDL parece ser el defecto principal y crucial del estado de resistencia a la insulina que acompaña a la obesidad y a la hiperinsulinemia compensatoria. La incapacidad para suprimir la producción hepática de glucosa, de adquirir glucosa por parte del músculo y de suprimir la liberación de ácidos grasos no esterificados del tejido adiposo son las consecuencias más importantes de la resistencia a la insulina en el hígado, músculo y tejido adiposo, respectivamente. Estos eventos, dan origen al incremento de ácidos grasos no esterificados y al flujo de glucosa hacia el hígado, el cual es un regulador importante de la producción de las VLDL hepáticas.⁽²⁵⁾

Además, la resistencia a la insulina en la obesidad se caracteriza por la disminución en la remoción de lípidos ricos en TG. La insulina es un estimulante para la actividad de la lipoproteína-lipasa (LPL), aumentando el ácido ribonucleico mensajero (RNAm) de la LPL y así aumentando su tasa de síntesis. La actividad de la LPL en el músculo esquelético disminuye con la resistencia a la insulina. Así, la disminución de la actividad de la LPL en la resistencia a la insulina hacen más lenta la cascada metabólica normal de lipoproteínas, lo que da como resultado una disminución en la eliminación de VLDL.⁽²⁶⁾

En el estado de resistencia a la insulina, la composición y la distribución de partículas de LDL se altera con incremento de la concentración de partículas de LDL densas y pequeñas. La partícula de LDL se caracteriza por un centro lipídico formado principalmente de ésteres de colesterol rodeado por un Apo B-100. En la resistencia a la insulina, el contenido lipídico del centro cambia debido a que los ésteres de colesterol disminuyen y existe incremento de TG, con disminución en el número de moléculas de colesterol por partícula de LDL.⁽²⁷⁾

Los TG en ayuno y la concentración de LDL densas y pequeñas se correlacionan positivamente, debido a que la formación de éstas últimas dependen en gran parte del metabolismo de las partículas de VLDL. En los estados de resistencia a la insulina, el incremento en la concentración y la disminución en la excreción de partículas de VLDL inducen al aumento del intercambio entre los ésteres de colesterol en LDL y TG en VLDL, mediado por la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (PTEC). Este intercambio produce partículas de LDL enriquecidas en TG, las cuales son lipolizadas rápidamente por la lipasa hepática (LH), dejando partículas de LDL más densas y más pequeñas.⁽²⁷⁾

La actividad de la PTEC y de la LH parece aumentar en el síndrome metabólico. Este proceso de intercambio también lleva a la producción de partículas de VLDL ricas en ésteres de colesterol altamente aterogénicas. Las partículas de LDL densas y pequeñas tienden a modificarse a través de oxidación y glicación. De igual manera, la reducción en el diámetro de estas partículas aumenta la probabilidad de su movimiento a través de las fenestraciones endoteliales, donde hay inflamación, ingesta de leucocitos y transformación de la placa ateromatosa. Todas estas modificaciones pueden dar como resultado disminución de la eliminación de partículas de LDL densas y pequeñas mediadas por el receptor de LDL, las cuales pueden contribuir al aumento en sus niveles plasmáticos. La LDL modificada es

tomada casi totalmente por los receptores de remoción macrofágicos en lugar de serlo vía el receptor de LDL normal, induciendo así la formación del ateroma. ⁽²⁷⁾

Varios mecanismos pueden contribuir a la disminución de HDL en la resistencia a la insulina en la obesidad, y a semejanza de la formación de partículas de LDL densas y pequeñas, el metabolismo de los lípidos ricos en TG juega un papel importante. La mayoría de los estudios de lipoproteínas han mostrado una relación inversa entre los TG VLDL y el c-HDL. El bloqueo de la lipólisis de lipoproteínas ricas en TG lleva a una reducción en la concentración de HDL mediante la disminución de la transferencia de apolipoproteínas (Apo) y fosfolípidos de los lípidos ricos en TG al compartimiento de la HDL. Además, la excreción retardada de lípidos ricos en TG facilita el intercambio entre los esteres de colesterol de la molécula de HDL y los TG de la molécula de VLDL mediada por la PTEC. El incremento en la actividad de la LH en los estados de resistencia a la insulina como la obesidad produce partículas de HDL más pequeñas, lo que facilita su excreción. ⁽²⁸⁾

Finalmente, en la resistencia a la insulina existe disminución significativa de partículas de HDL, especialmente en las que contienen en su mayoría Apo A-I, referidas como partículas de lipoproteína A-I (LpA-I). Las partículas de LpA-I son más efectivas que las LpA-II en revertir el proceso del colesterol, por ello son consideradas de mayor capacidad antiaterogénica. La función de la Apo A-II aún no se encuentra bien establecida. ⁽²⁸⁾ Sin embargo, datos recientes sugieren que la Apo-II posiblemente tenga un papel importante en la acumulación de grasa visceral. ⁽²⁹⁾

Algunos estudios genéticos en ratas y Apo A-II humana transgénica han mostrado tener un papel importante de esta Apo en la sensibilidad de la insulina. La leptina, el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$), la resistina, la adiponectina o las adipocitoquinas secretadas por el adipocito representan a los péptidos semejantes a hormonas más importantes. En la obesidad, los niveles de leptina plasmática, del

factor de necrosis tumoral alfa y de resistina se encuentran aumentados, mientras que los niveles de adiponectina se encuentran disminuidos. Las adipocitoquinas pueden tener muchos efectos metabólicos tanto en el metabolismo de la glucosa como en el de las lipoproteínas, debido en gran parte al estado de resistencia a la insulina que acompaña a la obesidad. Sin embargo, parece que la correlación positiva entre la adiponectina plasmática y los niveles de colesterol HDL es independiente de la masa corporal de grasa y la sensibilidad a la insulina.⁽³⁰⁾ Todo se resume en la Figura 2.

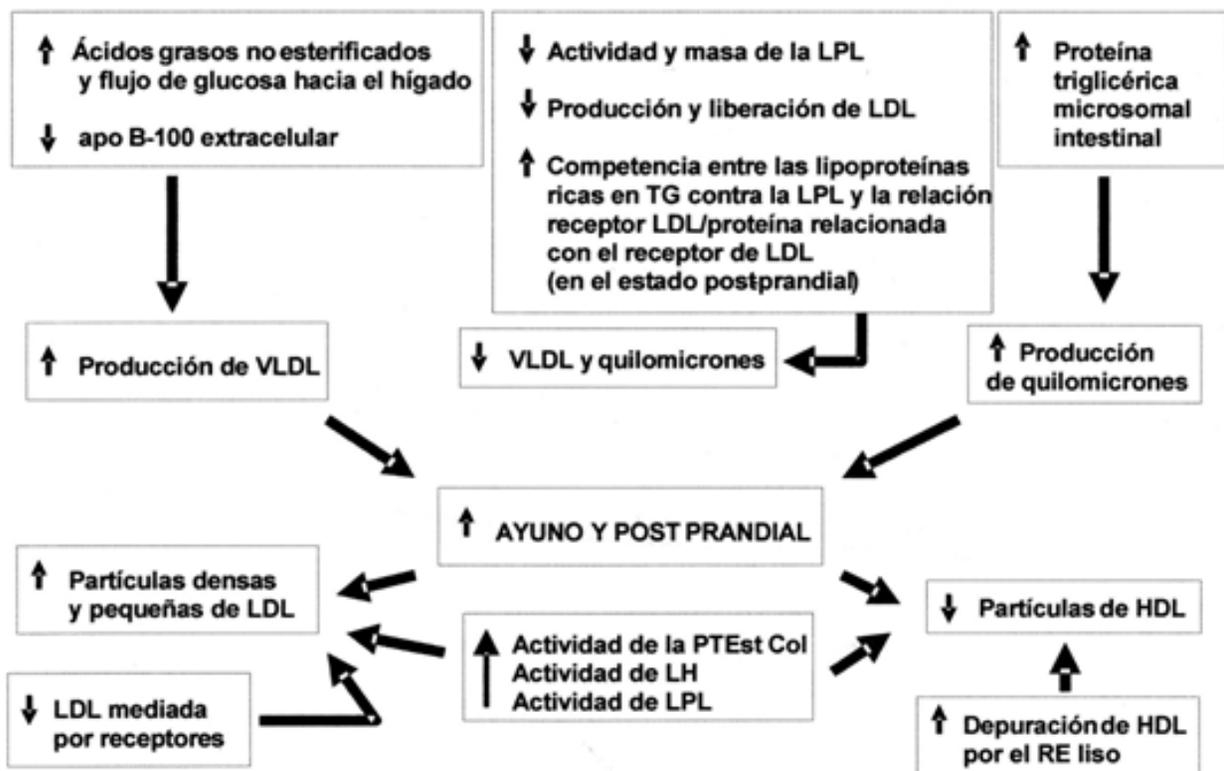


Figura 2. Resumen fisiopatológico de las alteraciones de los lípidos en la obesidad. Apo B-100 = Apolipoproteína B-100, VLDL = Lipoproteínas de muy baja densidad, LDL = Lipoproteínas de baja densidad, HDL = Lipoproteínas de alta densidad, TG = Triglicéridos, LPL =Lipoproteína Lipasa, RE = Reticulo Endoplásmico. (*Gac Méd Méx.* 2004; 140(2):S48-S58).⁽²⁷⁾

1.3. ATEROSCLEROSIS

1.3.1 Definición

La aterosclerosis puede definirse como una afección vascular crónico-degenerativa caracterizada por inflamación crónica secundaria a la infiltración, acumulación de lípidos oxidados en la pared del vaso y degeneración fibrótica cicatricial, que afecta primero la íntima y luego la túnica media y adventicia de las grandes y medianas arterias.⁽³¹⁾

Aterosis se refiere a la acumulación focal de lípidos, particularmente en la íntima arterial, seguida de una reacción inflamatoria despertada por la oxidación de las lipoproteínas depositadas en el subendotelio, que a su vez es causada por la acción de las especies reactivas de oxígeno (ROS). El proceso incluye la formación de citocinas proinflamatorias y citotóxicas, la expresión de moléculas de atracción y adhesión de leucocitos con formación de células espumosas (macrófagos cebados de lípidos).⁽³¹⁾

Eclerosis se refiere a la formación de tejido fibromuscular que rodea el centro aterósico, y que es el resultado de la hiperplasia y la hipertrofia de los miocitos vasculares y de la distrofia de la matriz extracelular (MEC), con evidentes propósitos cicatriciales.⁽³²⁾

1.3.2 Historia natural

Aunque las manifestaciones clínicas de la aterosclerosis se presentan por lo general en las edades madura y avanzada, la lesión vascular y las alteraciones estructurales y funcionales que la preceden, se empiezan a desarrollar a corta de edad. En la Tabla 7, muestra esquemáticamente el desarrollo del largo proceso aterogénico.⁽³¹⁾

El fenómeno de la aterogénesis conjuga factores genéticos y ambientales, metabolitos circundantes, receptores, enzimas, proteínas transportadoras, fuerzas hidráulicas, hormonas, factores trombogénicos, inflamatorios e inmunológicos, sistémicos y locales.⁽³¹⁾

Tabla 7. Clasificación de las lesiones aterosclerosas

Tipo de lesión	Mecanismo de crecimiento	Comienzo	Correlación clínica
Inicial (Punto graso) Células espumosas aisladas	Acumulación focal de lípidos	A partir de la primera década	Sin síntomas
Mancha (Estría grasa) Acumulación de lípidos intracelulares			
Intermedia (Preateroma) Acumulación de lípidos intra y extracelulares		A partir de la tercera década	Condiciones sintomáticas
Ateroma Centro lipídico extracelular			
Fibroateroma Ateroma + fibrosis	Hipertrofia e hiperplasia de miocitos + displasia colágena (fibrosis)	A partir de la cuarta década	Condiciones sintomáticas
Complicada Ulceración, fisura, trombosis y hemorragia	Trombosis Hematoma Fibrosis		
Calcificada	Calcificación		
Fibrótica	Fibrosis		

Fuente: Atlas of atherosclerosis. *The Parthenon Publishing Group*. 2003:16-18⁽³¹⁾

El daño funcional y estructural empieza en el endotelio mismo, luego se lesiona el subendotelio, la túnica media y finalmente la adventicia. Antes de que sea evidente el menor daño estructural en el endotelio, algunas lipoproteínas infiltran la pared vascular y la acumulación de colesterol ligado a diversas lipoproteínas. ⁽³³⁾

Una vez que las lipoproteínas llegan al subendotelio, quedan sembradas en la MEC de esta región, constituida por diferentes tipos de proteínas fibrosas de gran resistencia tensora (colágeno, elastina, laminina, etc) y de polisacáridos GAG (glucosaminoglicanos), de los cuales el ácido hialurónico se une a una larga cadena polisacárida, mientras que el resto se une a proteínas para formar la superfamilia agregada formada por complejos de proteoglicanos (PG), cuya función es atenuar el impacto sobre la pared arterial de las fuerzas hidráulicas que se generan en el interior de los vasos sanguíneos. ⁽³³⁾

Las lipoproteínas aterogénicas quedan atrapadas por los PG en virtud de que la Apo B-100 interactúa con los PG. La unión de la Apo B-100 con los PG modifica la estructura de la lipoproteína y la hace más susceptible a modificarse y menos removible del entorno subendotelial. Las LDL pequeñas y densas, que por su tamaño atraviesan fácilmente la barrera endotelial, son las que a su vez tienen mayor afinidad por los PG, por lo que ambos hechos les otorgan mayor aterogenicidad. ⁽³³⁾

El siguiente paso de la aterogénesis se debe a la oxidación de las lipoproteínas que quedaron sembradas en la red de PG. Cuando hay estrés oxidativo, las partículas empiezan a ser atacadas por ROS. Los ácidos grasos que son parte constitutiva de los fosfolípidos son los más susceptibles a fragmentarse. Las HDL que llegan al subendotelio a través de proteínas puente que las asocian a los PG, tienen un acción antioxidante gracias a dos series de enzimas que son parte constitutiva de su pared, la Paraoxonasa (PON) que impide la fragmentación de los fosfolípidos y la PAF-AH (factor activador de las plaquetas-acetilhidrolasa) que fragmenta los fosfolípidos en moléculas no proinflamatorias. ⁽³⁴⁾

El subsiguiente, es el despertar de una reacción inflamatoria caracterizada por la entrada de leucocitos desde el torrente circulatorio hacia los tejidos, en respuesta a un proceso patogénico proinflamatorio causado por las LDL modificadas, incluyendo moléculas adhesivas como la P-selectina, la molécula de adherencia vascular de la célula-1 (VCAM-1 o ICAM-1) y activadores de los monocitos como la proteína quimioatrayente de monocitos -1 (MCP-1), que influyen tanto en la adherencia, como en la migración y la conversión final en macrófagos.⁽³⁵⁾

El reclutamiento de macrófagos hacia el interior de la pared arterial, es uno de los pasos cruciales para el desarrollo de la placa aterosclerosa. El MCP-1 participa en el proceso aterogénico, al aumentar el número de macrófagos en la placa mediante la mayor expresión de VCAM-1, y mediante la estimulación de la fagocitosis de LDL oxidada en estas células, provocando la formación de células espumosas.⁽³⁵⁾

La célula espumosa tiene un activo metabolismo que le permite esterificar el colesterol, producir grandes cantidades de fosfatidilcolina mediante la degradación de fosfolípidos, y producir enzimas metaloproteinasas (MMP), tales como las colagenasas, gelatinasas y estromelinas lipasas que son capaces de degradar la MEC e incluso denudan el endotelio.⁽³⁶⁾

El siguiente paso de la aterogénesis es el desarrollo de la segunda lesión, la esclerosis vascular, que es el resultado del balance entre las fuerzas proliferativas (factores de crecimiento producidos por el endotelio, las plaquetas y otras células) y las fuerzas que tienden a degradar la matriz (MMP, ROS y RNS (especies reactivas de nitrosativas) producidos por macrófagos y linfocitos).⁽³⁶⁾ La Figura 3, muestra el proceso aterogénico.

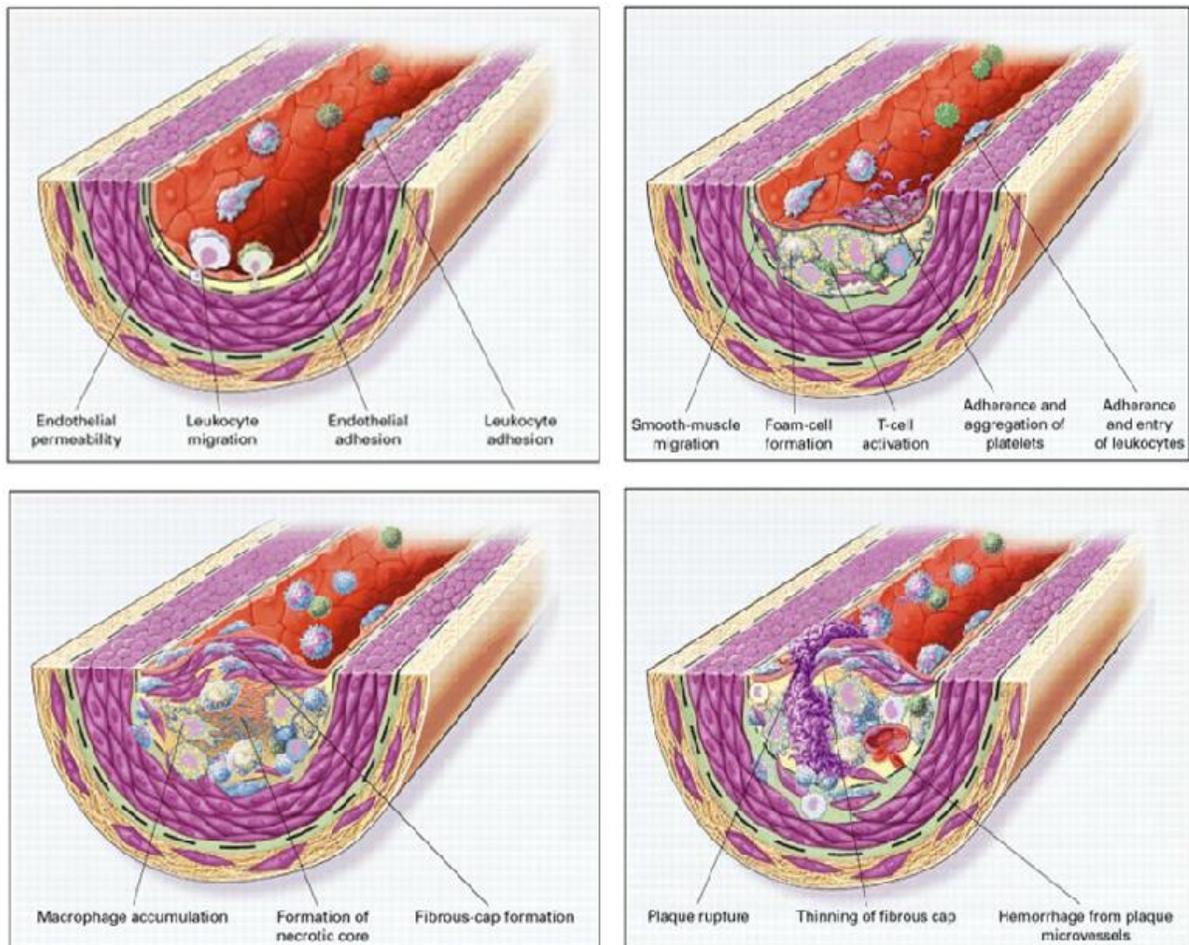


Figura 3. Desarrollo de la placa aterogénica. En una primera fase, simplemente se oxidan las LDL, pero cuando los monocitos y son finalmente reclutados y convertidos en macrófagos se añade su gran capacidad oxidativa. El resultado es una masiva acumulación de colesterol y por tanto la formación de células espumosas. (*The Parthenon Publishing Group*. 2003:16-18).⁽³¹⁾

1.3.3 Panorama epidemiológico

Las ECV incluyen un grupo de afecciones del aparato circulatorio, entre las que se destacan la enfermedad isquémica del corazón (EIC), la enfermedad vascular cerebral, la enfermedad hipertensiva y la aterosclerosis que comparten además factores de riesgo.

Cada año, aproximadamente 37 millones de personas en el mundo sufren un evento cardiovascular y alrededor de 17.5 millones de personas mueren por dichas causas.⁽³⁷⁾ Con frecuencia las ECV resultan de la interacción de diferentes factores de riesgo cardiovascular (FRCV), en donde se incluyen hipertensión, niveles elevados de lípidos en la sangre, diabetes, obesidad y tabaquismo.

Se espera que para el año 2050 se haya duplicado su frecuencia, de manera que no sólo seguirá siendo la primera causa de mortalidad sino que será la primera causa de morbilidad.

Del total del riesgo, los países de ingresos medios y bajos tienen 80% de la carga de enfermedad. Y se espera que vaya aumentando. Esto significa que para el año 2020 habrá aumentado el número de muertes por esta causa a más de 24 millones por año.⁽³⁷⁾

La ECV sigue siendo la primera causa de muerte en México. La prevalencia de los factores que las originan son muy altas. La prevalencia entre la población con hipertensión arterial corresponde al 30.05%, lo que significa casi 18 millones. Teniendo en cuenta que el 60% de dicha población lo desconoce. El 43% de la población presenta hipercolesterolemia con cifras > 200 mg/dL.⁽³⁸⁾

1.3.4 Factores de riesgo

En relación con la aterosclerosis, el concepto de factor de riesgo adquiere especial relevancia porque se trata de una enfermedad crónica, sin agente causal que la explique, como sucede con las enfermedades transmisibles, en las que se aprecia la existencia de diversas situaciones que pueden condicionar su aparición.

El riesgo de desarrollar aterosclerosis aumenta cuando se observan antecedentes familiares de ECV. En estos casos es pertinente el consejo genético, que puede constituir una medida preventiva. Otras dos características no modificables son la edad y el sexo, que pueden condicionar un mayor riesgo de desarrollar ECV.⁽³⁹⁾

Los factores relacionados con los hábitos, se refieren básicamente al estilo de vida e incluyen patrones dietéticos inadecuados particularmente por el consumo excesivo de ácidos grasos saturados (AGS) e ingestión carente de fibra dietética, tabaquismo, consumo excesivo de alcohol y sedentarismo.⁽³⁹⁾

También existen padecimientos cuya historia natural señalan el desarrollo de complicaciones aterogénicas. Es el caso de la diabetes, la obesidad, la hipertensión arterial y la hipercolesterolemia (Las personas con niveles de colesterol en sangre de 240 mg/dL tienen el doble de riesgo de sufrir un infarto al miocardio (IM) que aquellas con cifras de 200 mg/ dL).⁽⁴⁰⁾

Las ECV requieren una intervención múltiple, ya que no basta con prevenir o atender uno de los factores de riesgo; es necesario que se consideren todos ellos. La prevención de la aterosclerosis consiste principalmente en regular las concentraciones plasmáticas de lípidos dependientes de la dieta. Hay que considerar el exceso de peso corporal y el sedentarismo. Para ello, es recomendable diseñar un plan de alimentación:⁽⁴¹⁾

1. Consumo de alimentos modificados en lípidos.
2. Incremento del consumo de fibra soluble.
3. Ingestión de cantidades adecuadas de ácidos grasos ω -3 y ω -6, ácido fólico, vitamina E y ácido ascórbico.
4. Consumo moderado de alcohol y tabaco.
5. Aumento de la actividad física.

1.3.5 Dieta y metabolismo de lipoproteínas

Para su transporte, el colesterol, los TG y los fosfolípidos necesitan unirse a proteínas conocidas como lipoproteínas. En general, éstas contienen en su núcleo una doble capa interna de lípidos neutrales formada por TG y ésteres de colesterol, y una capa superficial de fosfolípidos solubles, pequeñas cantidades de colesterol no esterificado y proteínas específicas, llamadas apolipoproteínas (Apo).⁽⁴¹⁾

Las Apo actúan como receptores o activadores de enzimas y son específicas para cada lipoproteína, como se puede observar en la Tabla 8. Son las principales determinantes del tipo y conducta metabólica de las lipoproteínas.⁽⁴¹⁾

Existen cinco tipos de lipoproteínas, su densidad depende de la cantidad de proteínas que contengan. La aterogenicidad de cada una de estas partículas depende de su composición y función metabólica.⁽⁴¹⁾ en la Tabla 9 se resumen sus características.

Tabla 8. Características de las principales lipoproteínas.

Lipoproteína	Componentes	Apolipoproteínas	Densidad g/ cm ⁻³
Quilomicrones	TG de la dieta	A-1, A-II, B-48, C-I, C-II, C-III y E	>0.95
VLDL Muy baja densidad	TG endógenos y ésteres de colesterol	B-100, C-I, C-II, C-III y E	0.95 – 1.006
LDL Baja densidad	Ésteres de colesterol, colesterol y TG	B-100	1.019 – 1.063
IDL Densidad intermedia	Ésteres de colesterol, colesterol y TG	B-100, C-III y E	1.006 – 1.019
HDL Alta densidad	Ésteres de colesterol, colesterol y TG	A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, D y E	1.063 – 1.210

Fuente: Adaptada de Brown⁽⁴¹⁾

Las modificaciones de la dieta pueden modular los niveles de lipoproteínas circulantes, existiendo una gran variabilidad en la respuesta individual, la que se supone genéticamente condicionada.

1.3.5.1 Glúcidos

Un aporte excesivo de glúcidos, de preferencia mono y disacáridos (glucosa, sacarosa, fructosa) incrementa la síntesis y secreción de VLDL y acelera el catabolismo de HDL. La glucosa posiblemente ejerce su efecto al incrementar la secreción de insulina. En cambio, la fructosa lo hace porque su vía metabólica preferencial es hacia síntesis de glucógeno y TG.⁽⁴²⁾

1.3.5.2 Fibra dietética

La fibra dietética soluble reduce las LDL y atenúa las excursiones postprandiales de los quilomicrones. Su efecto se atribuye a su capacidad de adsorber sales biliares, reducir su concentración, lo que incrementa el catabolismo del colesterol hepático. La reducción de la disponibilidad de colesterol en el hígado, incrementa la expresión de receptores de LDL. Ello parece ser causado por un receptor Farnesoide x (Fxr), que ejerce un efecto regulatorio entre el contenido de sales biliares y la actividad de la 7 alfa hidroxilasa, enzima clave de la síntesis de sales biliares a partir del colesterol y por la proteína ligante de sales biliares (I-BAPS), responsable del transporte de sales biliares a nivel hepato-biliar. Al reducirse el contenido de sales biliares, se activa la 7 alfa hidroxilasa. Su efecto sobre los quilomicrones se atribuye a interferencia con la absorción de las grasas.⁽⁴²⁾

1.3.5.3 Grasas

Las grasas saturadas e hidrogenadas elevan los niveles del colesterol de LDL y las mono y poliinsaturadas lo reducen. El mecanismo no está aclarado, pero se piensa que modulan la expresión de los receptores de LDL y que ello se realizaría a través

de cambios de la expresión de la Acil Colesterol Acil Transferrasa (ACAT), enzima clave en la esterificación del colesterol intracelular. Las grasas saturadas reducen su expresión, incrementando la proporción de colesterol libre en el hígado, lo que conduce a una reducción de la síntesis de receptores de LDL.⁽⁴⁴⁾ En cambio, las mono y poliinsaturadas, incrementarían la expresión de la ACAT, reduciendo el contenido de colesterol libre y aumentando la expresión de los receptores de LDL. Las grasas poliinsaturadas, especialmente las marinas (ω -3), reducen la síntesis y secreción de VLDL, posiblemente por inhibición de los genes involucrados en su síntesis, tales como Apo-I y las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FATPs). Las grasas poliinsaturadas ω -3, estimulan el catabolismo de las VLDL, activando la oxidación de acil-ácidos grasos a nivel peroxisomal.⁽⁴²⁾

1.3.5.4 Colesterol

Una gran proporción de la población puede mantener “niveles aceptables” de colesterol plasmático frente a un amplio rango de ingestión de colesterol. Ello se debe a la contra regulación de la síntesis endógena, esto es a mayor ingesta menor síntesis y viceversa. También existe una contraregulación de su absorción intestinal que oscila entre 40-60%. Sin embargo, existe una proporción de la población que responde incrementando significativamente los niveles de las LDL. Los hiperrespondedores elevan los niveles de las LDL, reduciendo el número de receptores hepáticos y periféricos de LDL. Al existir una mayor disponibilidad hepática de colesterol, se activan factores de transcripción como la partícula de reconocimiento de la señal (SRP) que reducen la síntesis de receptores. Ello reduce el catabolismo de LDL y eleva las LDL.⁽⁴²⁾

1.3.6 Aterosclerosis y Paraoxonasa

El proceso de generación aumentado de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, en ocasiones unido a una disminución de los mecanismos de defensa antioxidantes, constituye la base de la patogénesis de la aterosclerosis.

Por lo tanto, los mecanismos de prevención de la oxidación de LDL parecen ser antiaterogénicos. En este sentido, las HDL asociadas a PON1 pueden ser una barrera importante de defensa contra los peróxidos lipídicos. La capacidad de HDL para atenuar la oxidación de las LDL se debe en gran parte a la Paraoxonasa 1 (PON1).⁽⁴³⁾ En la Figura 4 se muestra un esquema general de dichos mecanismos.

En *in vitro* la actividad paraoxonasa previene la oxidación de las LDL e incluso la oxidación de las propias HDL. La PON1 en *in vivo* actúa directamente sobre los peróxidos lipídicos.^(44,45)

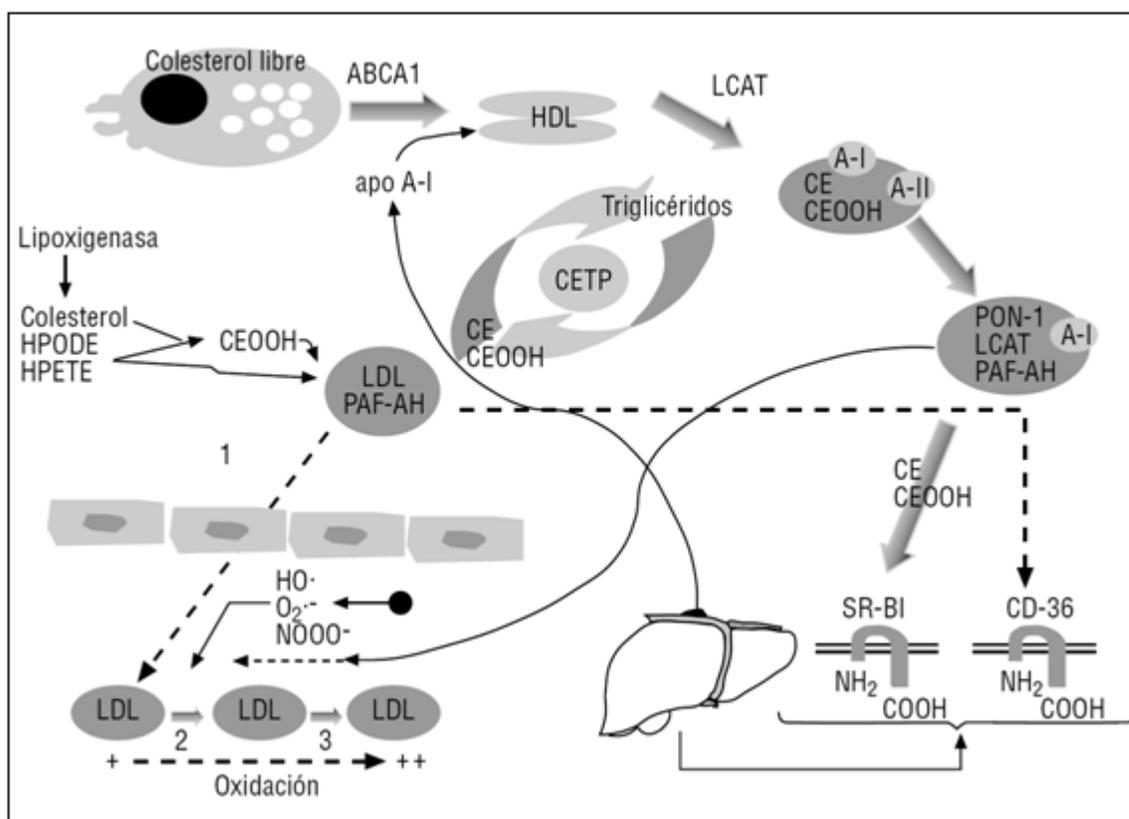


Figura 4. Metabolismo de las HDL y su papel protector frente a la oxidación de las LDL. El mecanismo de formación de LDL mínimamente oxidadas consta al menos de tres pasos. El primero consistiría en el mencionado sembrado de las LDL con productos del metabolismo del ácido araquidónico y con CEOOH. El segundo, en el trasvase de las LDL al espacio subendotelial, donde se produciría una acumulación adicional de especies reactivas del oxígeno. Y el tercero, conlleva la oxidación de fosfolípidos de las LDL cuando se alcanza un nivel umbral de especies reactivas del oxígeno. En el primero de los pasos descritos es donde presumiblemente interviene la actividad enzimática paraoxonasa. (*Rev Esp Cardiol.* 2006;59:154-64)⁽⁴⁴⁾

El potencial antiaterogénico de la PON1 vendría dado por su capacidad de hidrolizar lípidos oxidados, fosfolípidos y ésteres de colesterol peroxidados (CEOOH), limitando su acumulación en las LDL.⁽⁴⁴⁾ Pero es importante tener en cuenta que la actividad enzimática PON1 se restringe a ciertas subfracciones del HDL y que es necesaria la Apo A-I para su estabilidad.⁽⁴⁴⁾

En humanos, las variantes PON 1 Gln192Arg y Met55Leu parecen asociarse con una mayor susceptibilidad cardiovascular, con diferentes actividades y concentración de la PON1. El gen CLA-1 (CD36 y proteína-II integral de la membrana lisosomal Análogo-1) es el homólogo humano del gen SR-B1 (Receptor Scavenger clase B tipo 1) y constituye el primer receptor de alta afinidad de las HDL bien caracterizado. El receptor CLA-1 participa en el transporte reverso de colesterol a través de la entrada selectiva de ésteres de colesterol nativos y oxidados, y su papel ateroprotector se ha deducido de los estudios en animales genéticamente manipulados. En humanos, el gen CLA-1 es polimórfico y algunas de sus variantes han sido previamente asociadas con cambios fenotípicos en lipoproteínas plasmáticas. Ambos genes participan en el complejo metabolismo del HDL y, presumiblemente, en los mecanismos de defensa frente a estrés oxidativo.^(43,44)

1.4 PARAOXONASA

1.4.1 Definición

Existen mecanismos enzimáticos que interrumpen el proceso de lipoperoxidación de los cuales se han descrito dos familias de proteínas, las carboxilesterasas y esterasas A. A estas últimas también se les han denominado genéricamente como grupo de las Paraoxonasas (PON).⁽⁴⁶⁾

La PON es un grupo de enzimas de una familia génica que en los mamíferos tiene al menos tres miembros codificados por los genes PON1, PON2 y PON3.⁽⁴⁷⁾

Esta familia de genes probablemente se originó a partir de la duplicación de un precursor común, puesto que los tres son muy semejantes, en el 70% de la secuencia de nucleótidos y en el 60% de la de aminoácidos y se encuentran localizados en posiciones adyacentes del cromosoma 7 en la especie humana y del cromosoma 6 en ratones.^(47,48)

El grupo de la PON tiene diferentes actividades enzimáticas que se determinan a partir del sustrato que permite cuantificarlas. La actividad que utiliza paraoxon (insecticida) se denomina actividad paraoxonasa y la determinada utilizando fenilacetato se denomina arilesterasa. También tiene actividad tiolactonasa, y es capaz de hidrolizar tiolactonas de homocisteína.⁽⁴⁷⁾

En la Tabla 9 se enumeran las principales características funcionales de los productos génicos de PON1, PON2 y PON3, así como los tejidos donde se ha probado tener expresión.

Tabla 9. Principales características funcionales de PON1, PON2 y PON3

	PON 1	PON 2	PON 3
Actividad (paraoxonasa/ arilesterasa)	Si	No observado	Débil
Actividad tiolactonasa	Si	No observado	Si
Asociación a HDL	Si	No	Si
Protección a LDL (oxidación)	Si	Si	Si
Expresión (órgano)	Hígado	Hígado, riñón, cerebro	Hígado, riñón, placenta, testículo

Fuente: *Cardiovascular Risk Factors*, 2004;13:2 ⁽⁴⁷⁾

1.4.2 Paraoxonasa 1

La paraoxonasa 1 (PON1) se identificó inicialmente en el campo de la toxicología como una esterasa capaz de hidrolizar compuestos organofosforados como paraoxon, diazoxon, sarin, soman y fenil acetato.^(49,50) Figura 5.

La PON1 humana es una glucoproteína de 45 kDa dependiente de calcio que se sintetiza y secreta fundamentalmente en el hígado y plasma, donde se asocia a las HDL, especialmente en partículas que contienen Apo A-I y Apo J.⁽⁵¹⁾

El gen humano PON1 se localiza en el brazo largo del cromosoma 7 (7q21-q22).⁽⁵²⁾ En suero muestra 2 polimorfismos comunes: Q y R en la posición 192 (glutamina y arginina, respectivamente), y M y L en la posición 55 (metionina y leucina, respectivamente).^(49,53)

Una característica especial de la PON1 es que mantiene el péptido señal hidrofóbico del extremo N-terminal, que en la mayoría de proteínas es hidrolizado. Este péptido es el responsable de su asociación a las HDL a través de la unión directa a fosfolípidos.^(51,54)

La actividad PON1 está bajo la regulación genética y del medio ambiente y parece variar ampliamente entre individuos y poblaciones.⁽⁴³⁾ La actividad enzimática de la PON1 con paraoxón como sustrato es modulada por una serie de polimorfismos. Uno de ellos es PON1-192, tiene la isoforma glutamina en posición 192 (PON1-Q192), que muestra una baja actividad frente a la hidrólisis de paraoxón con respecto a la isoforma arginina en la misma posición (PON1-R192).⁽⁵²⁾

Aunque la PON1 ofrece protección contra la toxicidad de algunos compuestos organofosforados, su papel fisiológico aún no se conoce. Sin embargo, existe evidencia de un efecto protector contra el daño oxidativo. Un posible mecanismo de

esta protección mediada por la PON1 contra dicha oxidación e inflamación, podría residir en su capacidad para hidrolizar peróxidos lipídicos, especialmente hidroperóxidos de fosfolípidos, así como el factor activador de plaquetas (PAF) y otros fosfolípidos con estructura similar (PAF-like) que representan un elevado potencial inflamatorio.⁽⁵¹⁾

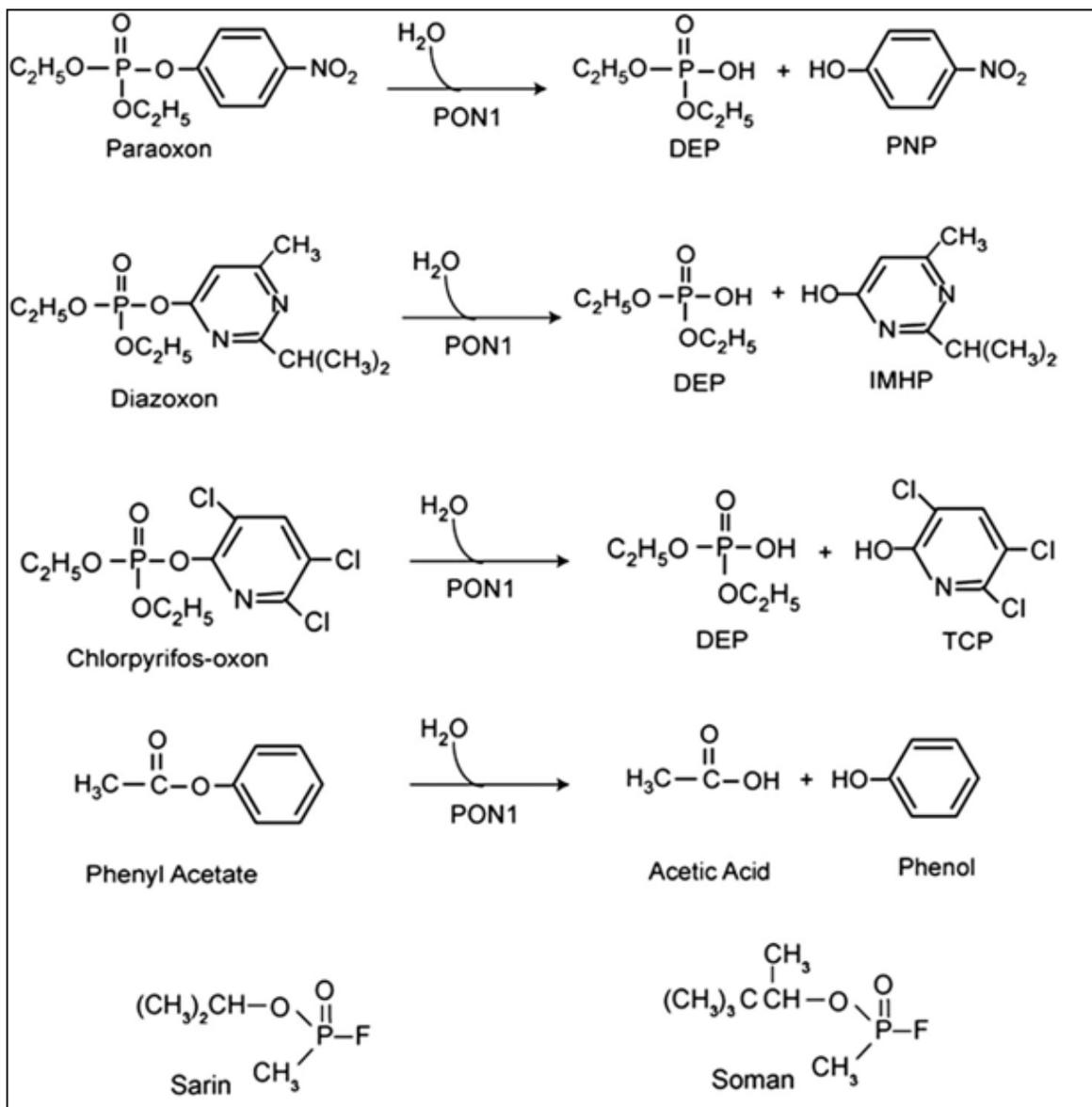


Figura 5. Hidrólisis de compuestos organofosforados. Hidrólisis de paraoxon, diazoxon y fenil acetato. Y las estructuras de sarín y soman. DEP = fosfato dietílico, PNP = pnitrofenol, IMHP = pirimidinol metil isopropílico y TCP = trichloropyridinol. (*Nat Med.* 1996; 2:1186 –1187.).⁽⁶⁰⁾

1.4.2.1 Determinantes de la actividad enzimática de la PON1

Distintas situaciones fisiológicas producen una disminución de la actividad sérica paraoxonasa:

1. La enfermedad arterial coronaria (EAC), el infarto al miocardio (IM) y la hipercolesterolemia familiar disminuyen las concentraciones de PON1 sérico.⁽⁵⁵⁾
2. Enfermedades como la insuficiencia renal, la hepatopatía crónica y la diabetes están asociadas con una disminución de la actividad PON1.⁽⁵⁵⁾

La DT1 se asocia a un elevado nivel de estrés oxidativo y una alta susceptibilidad a la EAC, así como a una disminución de la concentración de PON1 y de la actividad paraoxonasa.⁽⁵⁶⁾ La DT2 se caracteriza por presencia de metabolismo oxidativo acelerado, concentraciones disminuidas de colesterol de las HDL, alta prevalencia de obesidad y aterosclerosis acelerada.⁽⁵⁷⁾

Un estudio describió que las personas con DT1 tienen valores bajos de actividad paraoxonasa, independientemente del colesterol de las HDL, en contraposición a la población sana.⁽⁵⁶⁾ Las personas con DT2 presentaron valores de actividad paraoxonasa y de la razón actividad paraoxonasa/ c-HDL menores que los individuos sanos.⁽⁵⁸⁾

In vitro, las concentraciones elevadas de glucosa reducen la capacidad antioxidante de las HDL, en parte debido a que la actividad paraoxonasa y la razón actividad paraoxonasa/ c-HDL se hallan disminuidas, observándose a la vez un aumento de marcadores de oxidación.⁽⁵⁹⁾

Además, las personas con diabetes que presentan complicaciones tales como enfermedad coronaria, retinopatía o neuropatía poseen valores de actividad paraoxonasa menores que las personas sin complicaciones. ^(57,59)

La actividad paraoxonasa disminuye a medida que se incrementa el número de alteraciones metabólicas propias del síndrome metabólico, y esta disminución se acompaña de concentraciones progresivamente altas de peróxidos lipídicos. ⁽⁶⁰⁾

Los individuos con baja tolerancia a la glucosa o las personas con diabetes recién diagnosticadas presentan valores normales de la actividad enzimática de la PON1, aunque ya muestran un exceso de LDL oxidada. ⁽⁵⁷⁾

En la obesidad asociada a concentraciones elevadas de leptina se observa una disminución de las actividades paraoxonasa, arilesterasa y lactonasa de la PON1 y un incremento del estrés oxidativo, factores que podrían explicar, al menos en parte, la relación entre obesidad y aterosclerosis. ⁽⁶¹⁾

1.4.2.2 Factores que aumentan la actividad enzimática de la PON1

También se ha estudiado si existen factores ambientales, nutricionales o estilos de vida que puedan contribuir a estas variaciones:

1. Los extractos de humo de tabaco, el hábito de fumar y la ingesta crónica de alcohol inhiben la actividad PON1. ⁽⁵⁵⁾
2. El consumo excesivo de ácidos grasos saturados reduce la actividad de PON1. Y el consumo de ácidos grasos poliinsaturados (ω 3 y ω 6) reporta una mayor estabilidad de la PON1. ⁽⁶²⁾
3. El alto consumo de vitamina C y E, están asociados con un alto nivel de actividad de la PON1. ⁽⁶³⁾

4. El consumo de cantidades considerables de jugo de granada puede aumentar la actividad enzimática de la PON1.^(64,78) Sin embargo, no se han encontrado asociaciones claras entre factores nutricionales y la PON1.

1.5 GRANADA ROJA (*Punica granatum* L.)

1.5.1 Etimología

El nombre del género, *Punica* deriva de fenicios, quienes fueron unos difusores activos de su cultivo, en parte por razones de tipo religioso. El nombre de la especie *granatum* deriva del adjetivo del latín *granatus*, que significa “con granos” (debido a las semillas del fruto).⁽⁶⁵⁾

1.5.2 Origen y evolución

El fruto es originario de una región que abarca desde Irán hasta el norte de los Himalayas en India, y ha sido cultivado y naturalizado en toda la región del Mediterráneo y la región del Cáucaso desde tiempos antiguos.⁽⁶⁵⁾

Se sabe que el granado ha sido cultivado desde tiempos muy remotos, ya que se han encontrado indicios del consumo de esta fruta en tumbas egipcias de 2.500 años antes de la era cristiana. Se cree que fueron los cartagineses los que introdujeron el granado en la región mediterránea a raíz de las guerras Púnicas (de ahí el nombre *Punica granatum*, propuesto por Linneo) y fueron los españoles los que la llevaron a América, tras el descubrimiento de aquellas tierras.⁽⁶⁶⁾

En el Oriente es considerada como un símbolo de amor y fecundidad, para el pueblo judío es símbolo de concordia y los árabes sentían tal fascinación por ella que incluso le pusieron su nombre a la ciudad de Granada, siendo desde entonces el emblema de la misma.⁽⁶⁵⁾

1.5.3 Morfología

El granado, es arbusto caducifolio, que puede alcanzar de 3 a 6 m de altura, perteneciente a la familia de las *Punicaceae*. Las hojas son de color verde brillante, lustrosas por el haz y con el borde entero, de 3 a 7 cm de longitud y 2 cm de anchura. Las flores son de color rojo brillante, de 3 cm de diámetro, con cinco pétalos.^(66,69)

El fruto es una baya globosa, denominada balausta, de color rojo brillante, verde amarillento o blanquecino, coronado por un cáliz de 5-8 cm de diámetro, lleno de semillas y de cáscara coriácea. Las semillas están revestidas con una cubierta llamada sarcotesta, de consistencia pulposa, de forma prismática, de sabor agrídulce y color variante.^(66,69)

El clima que más conviene al granado es el clima subtropical e incluso el tropical. Los mejores frutos se obtienen en las regiones subtropicales donde el periodo de temperaturas elevadas coincide con la época de maduración de las granadas. La mejor época de plantación es la primavera entre febrero y marzo. Y entre junio y septiembre se convierte en la fruta de temporada.⁽⁶⁶⁾

1.5.4 Variedades

Hay cuatro tipos de granados que se cultivan: el granado común de frutos dulces (*hulm*), el granado agrio (*hamid*), el granado cuyo árbol se utiliza de ornamento (*nana*) y el granado de fruto sin pepita, que se produce en el Oriente Medio.⁽⁶⁶⁾

Comercialmente destacan dos variedades: el mollar de Elche que es un árbol muy vigoroso, de rápido desarrollo, fruto de tamaño grande, grano grueso, rojo oscuro y semilla muy reducida y blanda y el mollar valenciano cuyo árbol es vigoroso, fruto de tamaño grande, forma redondeada y aplanada, granado grueso y semilla muy reducida. Se caracteriza por ser de recolección temprana.⁽⁶⁶⁾

1.5.5 Producción

Actualmente su cultivo se extiende principalmente en países de la cuenca mediterránea (Norte de África, España y Grecia), Afganistán, Israel, Brasil y California.⁽⁶⁹⁾

España es uno de los principales países productores del mundo (superficie cultivada superior a 2.500 Ha), siendo el mayor productor y exportador de Europa. Esta producción se concentra fundamentalmente en la zona levantina de Alicante y Murcia.⁽⁶⁹⁾

La producción en México de granada roja en el año 2005 era muy escasa; alcanzó un volumen de 3,050 Ton obtenidas en una superficie de 292.00 Ha siendo los estados de Hidalgo y Guanajuato los que aportaron el 72% de la producción.⁽⁶⁷⁾

Para el año 2008, el estado de Hidalgo tuvo una superficie sembrada de 95.00 Ha, de las cuales el 100% se cosecharon alcanzando una producción de 1,030.000 Ton. Lo que equivale a un rendimiento de 10.84 Ton/ Ha y a un valor monetario de 4,379.00 mil pesos.⁽⁶⁸⁾ De esa producción total se divide por Distritos⁽⁶⁸⁾ como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Producción de granada por Distritos Hidalguenses

Distrito	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ Ha)	Valor Producción (miles de pesos)
Huejutla	-----	-----	-----	-----	-----
Huichapan	10.00	10.00	57.00	5.70	171.00
Mixquiahuala	58.00	58.00	838.00	14.45	2,933.00
Pachuca	-----	-----	-----	-----	-----
Tulancingo	-----	-----	-----	-----	-----
Zacualtipan	27.00	27.00	135.00	5.00	1,275.00

Fuente: Portal OEIDRUS Hidalgo, 2009⁽⁶⁸⁾

1.5.6 Composición química

Gran parte de su importancia organoléptica y posible papel benéfico para la salud, se debe a la presencia de compuestos fenólicos, ya que, a nivel organoléptico, los antocianos son los responsables de su atractivo color rojo y los taninos de su sabor astringente (siendo los ácidos orgánicos, cítrico y málico, los responsables del sabor acidulado), mientras que los elagitaninos y, en menor proporción, los antocianos le confieren propiedades antioxidantes.^(69,70)

Así mismo, la granada es rica en otros constituyentes nutricionales, que se muestran en la Tabla 11. Mayoritariamente, está compuesta por agua y azúcares, siendo menor su contenido en grasas y proteínas, lo que le confiere un bajo valor calórico.⁽⁶⁹⁾

Los fenoles totales se encuentran en una elevada concentración (aproximadamente 83 mg/100 g de porción comestible o 250 mg/100 mL). Dentro de esta fracción fenólica los compuestos mayoritarios pertenecen al grupo de los antocianos (flavonoides coloreados), elagitaninos, derivados del ácido elágico y otros taninos hidrolizables.⁽⁶⁹⁾

Dentro del grupo de los compuestos fenólicos coloreados, la granada se caracteriza por la presencia de 6 antocianos, derivados 3-glucósidos y 3,5 diglucósidos de delphinidina, cianidina y pelargonidina.^(69,70) (Figura 6)

Los derivados de cianidina son los que encuentran en mayor proporción (por encima del 60%), otorgando en total una alta concentración de estos flavonoides (alrededor de 13,3 mg/100 g de porción comestible o 40 mg/100 mL de jugo).⁽⁶⁹⁾

Tabla 11. Contenido por 100 gramos de porción comestible

Constituyente	Concentración
Agua	82,5 g
Hidratos de carbono	16,7 g
• Glucosa	7,2 g
• Fructuosa	7,9 g
• Sacarosa	1,0 g
• Fibra dietética	3,1 g
Proteínas	0,7 g
Lípidos	0,6 g
Minerales	
• Sodio	7,0 mg
• Potasio	290,0 mg
• Calcio	8,0 mg
• Magnesio	3,0 mg
• Fosforo	17,0 mg
• Hierro	0,5 mg
Vitaminas	
• Tiamina (B1)	0,05 mg
• Riboflavina (B2)	0,02 mg
• Ácido ascórbico (C)	7,0 mg
• Nicotinamida (niocina)	0,3 mg
Ácidos orgánicos	
• Ácido málico	0,1 g
• Ácido cítrico	0,5 g

Fuente: Tablas sobre la composición de alimentos, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2005 ⁽⁶⁹⁾

Dentro del segundo grupo, son las punicalaginas (Figura 6) los compuestos más abundantes, con concentraciones que alcanzan los 52 mg/100 mg de porción comestible (156 mg/ 100 mL de jugo), el ácido elágico (Figura 6) y sus derivados se encuentran en proporciones algo inferiores (un total de 4 mg/100 mg o 12 mg/100 mL

jugo) y el total de otros taninos hidrolizables alcanza valores de 14 mg/100 mg (42 mg/100 mL jugo).^(69,70)

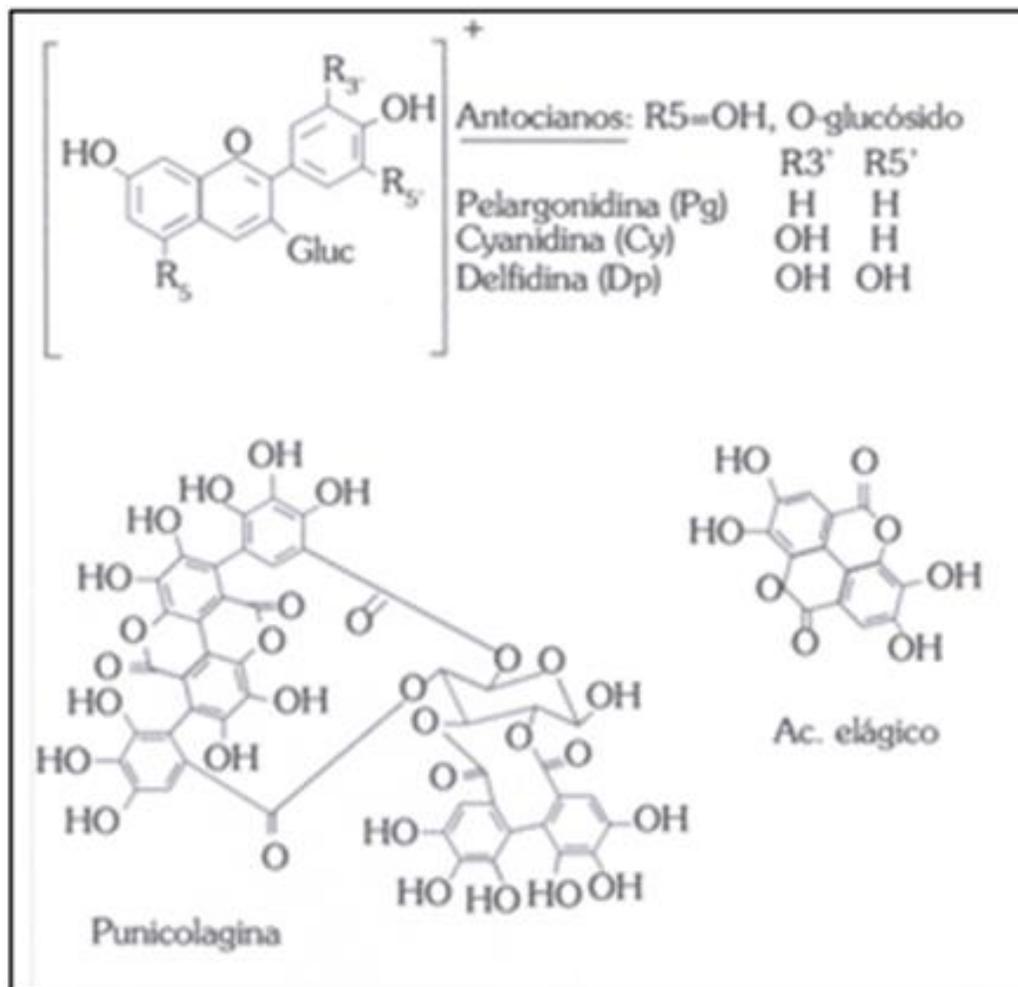


Figura 6. Principales compuestos fenólicos de la granada. Los cuales le otorgan el poder antioxidante. (*J. Agric. Food Chem.* 2000. 48: 4581-9)⁽⁷⁰⁾

1.5.7 Efectos benéficos

Desde la antigüedad, se conocen los beneficios que este fruto proporciona a nuestra salud. Las propiedades antioxidantes de la granada se atribuyen a la presencia de polifenoles, taninos y antocianinas.

Su alto contenido en agua y potasio y escasa concentración de sodio, le confieren propiedades diuréticas y depurativas, lo que unido a su concentración en ácido cítrico hace que se favorezca la eliminación de ácido úrico y sus sales a través de la orina. Por ello, se recomienda su consumo en caso de padecer gota, litiasis renal por sales de ácido úrico, obesidad e hipertensión.⁽⁶⁹⁾

Además presenta cualidades antisépticas y antiinflamatorias debidas a presencia de los ácidos cítrico y málico.⁽⁶⁹⁾ La corteza del fruto y las láminas internas que separan los granos son ricas en alcaloides, fundamentalmente en peleterina, lo que confieren propiedades purgantes. Asimismo, las punicorteínas de la corteza le otorgan efectos antitumorales.⁽⁶⁹⁾

En un estudio se demostró que el consumo de jugo de granada durante 1 año reduce significativamente la oxidación de las LDL y las HDL.⁽⁵⁸⁾ También se ha demostrado que las soluciones acuosas de las cáscaras de la granada (interior y exterior) contiene antioxidantes poderosos, los cuales fueron incluso más potentes que los antioxidantes del jugo de la misma.⁽⁵⁸⁾

Por otra parte en individuos con estenosis de la arteria carótida el consumo de este, redujo el estrés oxidativo en sangre y disminuyó el tamaño de la lesión aterosclerótica.⁽⁷¹⁾

En otro estudio se tenía como objetivo corroborar si el jugo de granada que contiene 10% de azúcar y polifenoles al ser consumido por personas con diabetes se alteraban sus niveles glucémicos, se concluyó que el consumo de jugo de granada durante 3 meses no empeora los niveles glucémicos, sino que da lugar a efectos antiaterogénicos reduciendo significativamente el estado oxidativo del suero derivados de los monocitos y macrófagos, así como en la captación de LDL-Ox por estas células.⁽⁷²⁾

Otro estudio, demostró las propiedades antiaterogénicas del jugo de granada en relación a su efecto inhibitorio sobre la peroxidación de los lípidos plasmáticos, principalmente de las LDL y en los macrófagos de colesterol. Lo que es más importante, atenuó la activación plaquetaria disminuyendo de forma sustancial la progresión de lesiones ateroscleróticas.⁽⁷³⁾

Recientemente también se demostró que el consumo diario de jugo de granada mejora la isquemia miocárdica inducida en pacientes con enfermedad arterial coronaria.⁽⁷⁴⁾ Todos estos efectos cardioprotectores del jugo de granada son atribuidos a la presencia de potentes polifenoles.⁽⁷⁵⁾

Actualmente están surgiendo reportes a cerca de que el jugo de granada estimula la actividad enzimática de la PON1. Se cree que este efecto es debido a las antocianinas y taninos presentes en la fruta. Sin embargo, aún no existe asociación clara entre estos y siguen siendo estudiados.^(64,76)

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México ocupa el segundo lugar en obesidad a nivel mundial. La prevalencia actual de sobrepeso ha sido estimada en el 70% de la población y dentro de este grupo, el 30% presenta obesidad.⁽¹⁹⁾ Por otra parte, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares están aumentando de manera alarmante y están dentro de las principales causas de muerte en el país.⁽¹⁹⁾

Una de las lesiones asociadas con más frecuencia a este grupo de padecimientos, es la aterosclerosis, que es una afección vascular caracterizada por la acumulación de lípidos oxidados, especialmente las LDL, con elevación de colesterol y triglicéridos. Así, como concentraciones disminuidas de las HDL.⁽¹⁵⁾

Por su parte, la Paraoxonasa 1 (PON1) es una enzima que además de su capacidad desintoxicante; al descomponer compuestos organofosforados ^(49,50) es capaz de proteger de la oxidación a las LDL ⁽⁵⁵⁾ evento que puede contribuir a la inhibición del desarrollo de la aterosclerosis. Estudios en humanos, han observado que la PON1 está bajo regulación genética y parece variar ampliamente entre individuos y poblaciones⁽⁴³⁾ expuestos a cambios ambientales y estilos de vida (consumo de alcohol, tabaco y sedentarismo), hábitos alimentarios, tratamientos farmacológicos y presencia de enfermedades. ⁽⁴⁴⁻⁶⁴⁾

También, se ha publicado que el tratamiento con polifenoles reduce el estrés oxidativo, esto fue demostrado en ratones E⁰ (ratones ateroscleróticos deficientes en Apolipoproteína E) que fueron suplementados con 6.25 y 12.5 μ L de jugo de granada (0.175 y 0.350 μ mol polifenoles totales) y en humanos que consumieron 20-80 mL/día de jugo de granada (0.54–2.16 mmol polifenoles totales). Se demostró que la cantidad total de polifenoles, 40% fueron flavonoides (antocianinas) y otra fracción es de taninos. ^(58,76)

Asimismo, se ha descrito que el consumo del jugo de granada estimula la actividad enzimática de la PON1.^(58,76) La granada es un fruto rico en polifenoles con gran capacidad antioxidante.^(69,70) Se conoce que el efecto de dicha fruta sobre la actividad paraoxonasa se atribuye a la presencia de taninos y antocianinas. Sin embargo, aún no existe asociación clara entre estos y siguen siendo estudiados.^(58,76)

Aunque, hay datos del uso de jugo de granada en modelos de animales diabetizados y ateroscleróticos,^(58,76) no hay reportes del efecto del jugo de granada en animales diabetizados y alimentados con dieta aterogénica. Además, el uso de la granada para estos fines es poco explorado en nuestro país, especialmente en Hidalgo, el cual es uno de los Estados con mayor producción de granada.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a la pandemia en la que se ha convertido la diabetes, es de gran importancia abordar el estudio de la enfermedad desde el punto de vista biológico nutricional de una manera preventiva. La PON1 puede ser un punto clave en la prevención e incluso en el tratamiento de la aterosclerosis (consecuencia común de la diabetes y la obesidad) debido a que existen varios reportes que demuestran que la PON1 confiere las propiedades antioxidantes de las HDL y es quizá el mecanismo principal de inhibición de la oxidación de las LDL y de las propias HDL,^(51,55) procesos directamente involucrados en las fases iniciales de la aterosclerosis. Este potencial antiaterogénico de la PON1 se debe a su capacidad de hidrolizar lípidos oxidados, fosfolípidos y ésteres de colesterol peroxidados (CEOOH), limitando su acumulación en las LDL.⁽⁴⁴⁾ Estudios *in vitro* han mostrado que la actividad de la PON1 previene la oxidación de las LDL e incluso la oxidación de las propias HDL.⁽⁵⁶⁾ Las investigaciones *in vivo* de la PON1 describen que actúa directamente sobre los peróxidos lipídicos.⁽⁵⁷⁾ Considerando lo anterior, es necesario ahondar sobre el como influyen los nutrimentos sobre la expresión de la PON1, específicamente los antioxidantes los cuales está demostrado tienen una función de regulación en la expresión de los genes. En este estudio se considera la utilización del jugo de granada por sobre otros jugos, por sus comprobadas propiedades antioxidantes, las cuales pueden contribuir a reducir el estrés oxidativo y la aterogénesis. Es por ello, que se considera relevante conocer si el jugo de granada, en una dosis superior a la reportada en los estudios citados, estimula la actividad de la PON1, en un modelo animal diabético inducido y alimentado con una dieta casera aterogénica. También se considera relevante conocer si el jugo de granada, por si solo, tiene algún efecto positivo sobre los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos. Finalmente, es sabido que la granada tiene numerosos efectos benéficos a la salud, ha mostrado tener efectos antiaterogénicos, antioxidantes, antihipertensivo y antiinflamatorios.⁽⁶⁹⁻⁷⁵⁾ Sin embargo, los mecanismos de acción para algunos casos no están claros y en otros como es el caso de la propiedad antiaterogénica se desconocen. Sin, embargo, no

es un fruto de alto consumo por la población mexicana, a pesar de que la región favorece su cultivo, por lo que se deben desarrollar estrategias para su implemento en el la dieta del mexicano y así fomentar su consumo.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar el efecto del jugo de granada sobre la actividad enzimática de la Paraoxonasa 1 (PON1) en ratones machos CD-1, diabetizados con estreptozotocina y alimentados con una dieta aterogénica.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar cómo influye el jugo de granada en la actividad de la PON1, en ratones CD-1 diabetizados con estreptozotocina y alimentados con dieta aterogénica.
2. Determinar el efecto del jugo de granada sobre los niveles de glucosa y perfil lipídico.
3. Evaluar al jugo de granada como una alternativa en el control de la diabetes y la aterosclerosis.

5. HIPÓTESIS

Ratones machos CD-1 diabetizados, alimentados con una dieta aterogénica y que beben jugo de granada, tienen una mayor actividad de la PON1. Así como niveles bajos de glucosa, colesterol y triglicéridos, comparados con animales que no beben el jugo.

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño metodológico

El diseño experimental del presente estudio se encuentra resumido en la Figura 7.

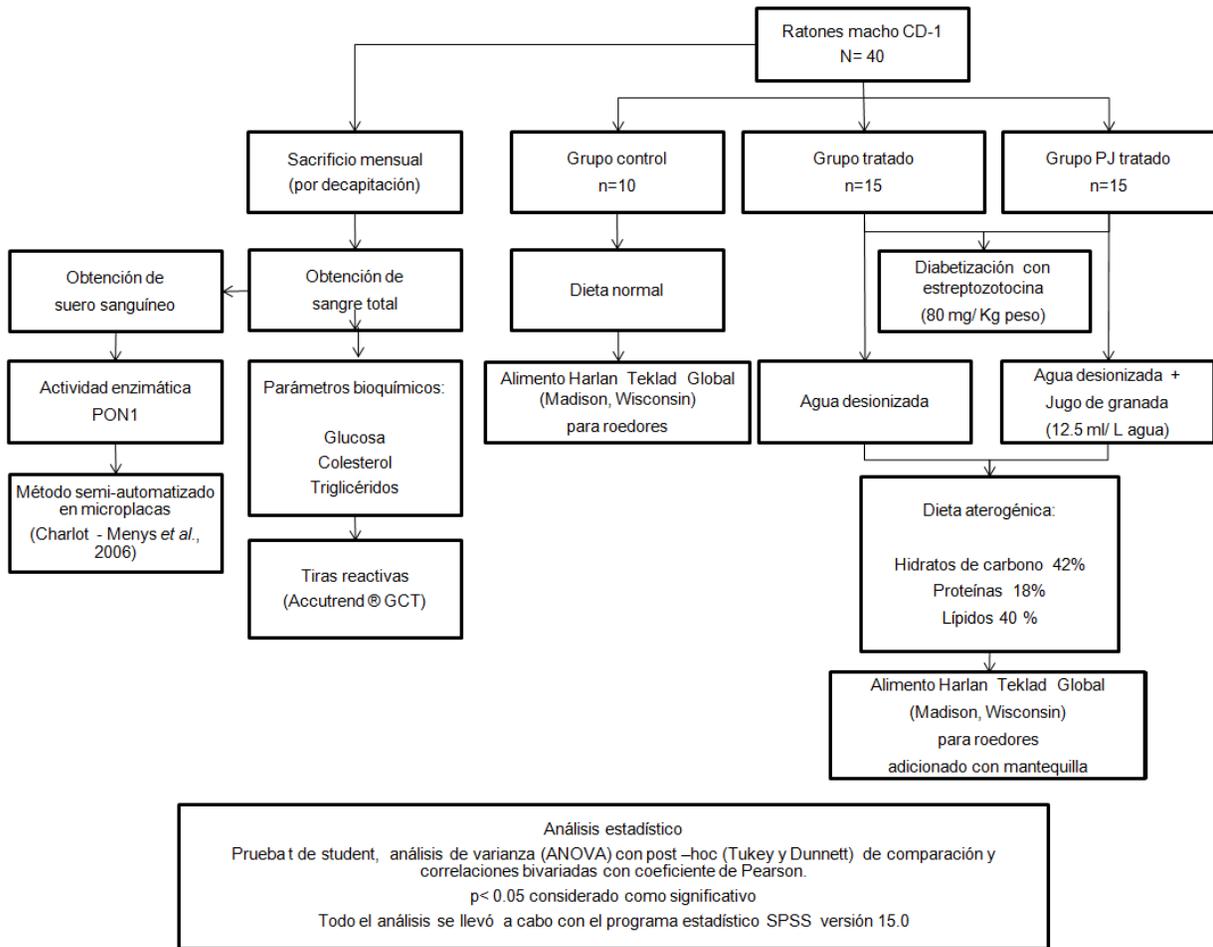


Figura 7. Diseño experimental.

6.2 Tipo de estudio

El estudio que se realizó es de tipo experimental longitudinal prospectivo.

6.3 Población de estudio

Se emplearon 40 ratones macho CD-1 entre 30 y 40 gr de peso. Los cuales fueron mantenidos bajo condiciones ambientales controladas (ver Anexo 1). Se dividieron en 3 grupos aleatoriamente (control, tratado y PJ tratado). El grupo control fue alimentado con una dieta normal. Los grupos tratado y PJ tratado fueron diabetizados con estreptozotocina (80 mg/ Kg de peso) y alimentados durante 5 meses con una dieta aterogénica a base de alimento Harlan Teklad Global (Madison, Wisconsin) para roedores (Anexo 2), adicionado con mantequilla (40 gr/ 100 gr alimento). El grupo PJ tratado fue además complementado con jugo de granada, el cual fue agregado en el agua (12.5 mL/ Lt agua).

6.4 Selección de la muestra

El modelo animal contemplado reunía los siguientes criterios de selección:

6.4.1 Criterios de inclusión

1. Ratones machos CD-1 con un peso de 30 a 40 gr.
2. Ratones machos CD-1 diabetizados.

6.4.2 Criterios de exclusión

1. Ratones machos CD-1 que presenten alguna otro padecimiento.
2. Ratones machos CD-1 con más de 8 semanas de edad.

6.4.3 Criterios de eliminación

1. Aquellos animales que durante el estudio presenten alguna alteración desconocida y que pudiera alterar los resultados del estudio.
2. Aquellos animales que durante el estudio murieran por cualquier razón.

6.5 Variables

6.5.1 Variables dependientes

1. Actividad enzimática de la PON-1
2. Indicadores bioquímicos (glucosa, colesterol y triglicéridos)
3. Peso corporal

6.5.2 Variables independientes

1. Enfermedad (diabetes).
2. Dieta (alimento aterogénico y jugo de granada).

6.6 Obtención de la muestra

Mediante el sacrificio mensual se recolectó el máximo de sangre total de cada animal, la cual fue colectada en tubos Eppendorf de 1.5 mL y congelados inmediatamente.

Posteriormente por centrifugación se separó el suero a 4500 rpm, a 4°C durante 7 minutos. Finalmente, el suero se extrajo en tubos Eppendorf de 0.5 mL y se guardó a - 70°C.

6.7 Medición de parámetros bioquímicos

Para la medición de parámetros bioquímicos se utilizó un kit de diagnóstico rápido (Roche®). El cual, utiliza tiras reactivas Accutrend. Se requiere de sangre capilar fresca para ser medida por un microlector (Accutrend® GCT) mediante el método de fotometría de reflexión.

Sus rangos de medición son: glucemia de 20 - 600mg/dL, colesterol de 150 - 300 mg/dL y triglicéridos de 70 - 600 mg/dL.

6.8 Medición de la actividad enzimática de la PON1 en suero sanguíneo

La medición de la actividad de la PON 1 en suero sanguíneo se realizó mediante un método semi-automatizado, el cual emplea un sistema de medición de micro-placas de 96 pozos y un lector de micro-placas (Bio-Tek-Junior).

La programación de los parámetros dentro del lector fueron los siguientes: modo cinético, filtro de 405 nm, tiempo total de medición 4 minutos a intervalos de 60 seg. La temperatura de medición de la actividad fue a temperatura entre 24.5-25.5°C.

El método consistió en adicionar 10 μ L del suero sanguíneo en cada pozo más 0.2 mL del sustrato de paraoxón (3.3 mM) y el regulador (2 mM de CaCl_2 , 100 mM de Tris pH= 8.0). Como blanco se usó 0.2 mL del sustrato de paraoxón más 10 μ L del regulador.

Una vez preparadas las mezclas, la microplaca es colocada en el lector Bio-Tek-Junior para efectuar la medición. Los valores de absorbencia a 405 nm fueron grabados y procesados para tener valores expresados en nmol/min mL.

6.9 Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos mediante un paquete de software estadístico (SPSS 15.0 para Windows, Inc., EE.UU). Todos los datos se expresaron como media \pm desviación estándar (D.S.) por grupo. Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales fueron analizadas mediante análisis de varianzas (ANOVA), con post-hoc (Tukey y Dunnett) de comparación y Prueba t de Student. Además de correlaciones bivariadas con coeficiente de Pearson. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

7. RESULTADOS

7.1 Actividad PON1

Al comparar las medias de la actividad de la PON1 por grupos de estudio, se observó una disminución de dicha actividad en los grupos tratados, como se observa en la Tabla 12. De acuerdo a la prueba t de Student la actividad de la PON1 en el grupo control fue mayor en un 63% ($p=0.063$) y 36% ($p=0.036$), con respecto al grupo tratado y PJ tratado, respectivamente.

Tabla 12. Actividad paraoxonasa (nm/ mLmin)

Grupo	N	Valores
Control	10	202.1676 ± 32.04973
Tratado	15	128.8969 ± 67.43544
PJ tratado	15	157.9238 ± 80.42395

Valores: medias ± D.S.
 $p < 0.05$

Al analizar la actividad de la PON1 por grupos de estudio con relación al tiempo, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.005$). En los ratones del grupo control, se observó una diferencia significativa entre el primer y segundo mes de estudio ($p=0.032$), como se observa en la Figura 8. En el primer mes de estudio la actividad se encuentra elevada, mientras que el segundo mes la actividad disminuyó considerablemente.

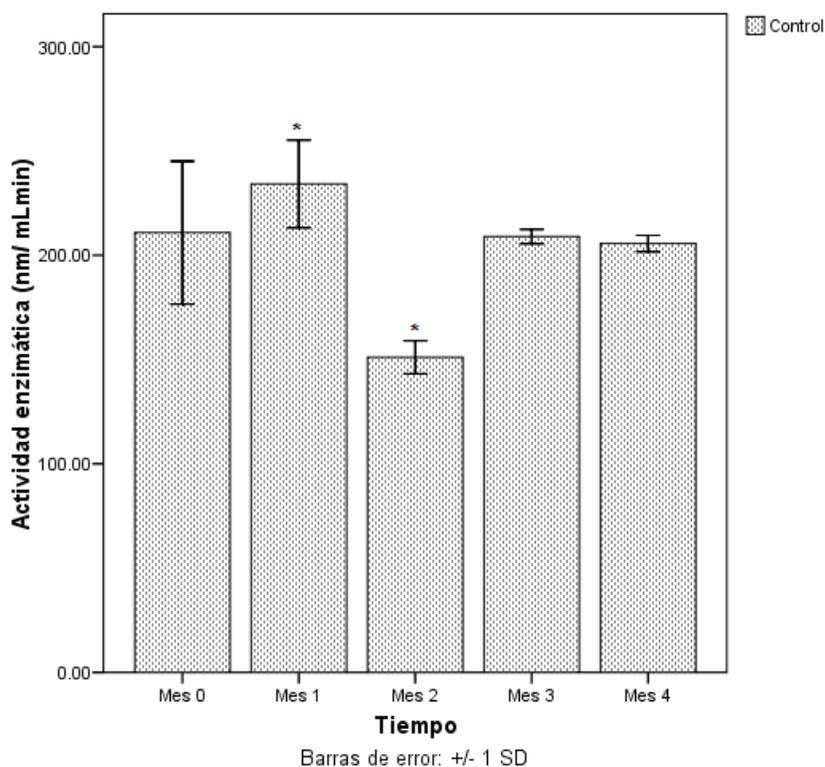


Figura 8. Actividad enzimática de la PON1 (nm/mLmin). La mayor actividad de la paraoxonasa se presentó en el grupo control. Sin embargo en el segundo mes de estudio se observó una disminución de la misma. (* $p < 0.05$).

Una reducción significativa ($p < 0.05$) en la actividad de la PON1 sérica fue observada en los ratones del grupo tratado cuando se compararon con el grupo control. Sin embargo, con respecto al tiempo se observó una diferencia poco significativa entre dichos grupos de estudio ($p = 0.309$), ver Figura 9(a). En el momento de comparar la actividad sérica de la PON1 entre el grupo control y el PJ tratado se observó una diferencia significativa ($p = 0.031$), para el cuarto mes de estudio se percibió un aumento de la actividad paraoxonasa del grupo que consumió jugo de granada en relación al primer y segundo mes del mismo ($p = 0.024$, $p = 0.13$), respectivamente. Como se muestra en la Figura 9(b).

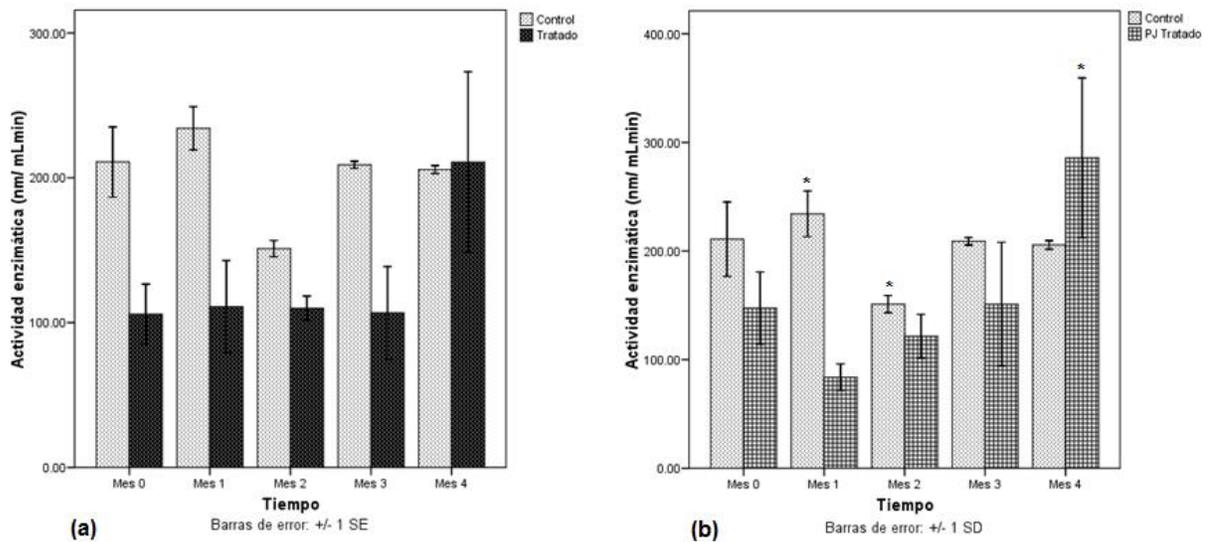


Figura 9. Actividad paraoxonasa por grupos de estudio. La comparación respecto al de la actividad de la PON1 entre el grupo control y tratado no mostró significancia alguna (a), pero el grupo PJ tratado mostró un aumento significativo en el último mes de estudio, lo que supone que el jugo de granada sí aumenta la actividad de dicha enzima (b) (* $p < 0.05$).

Por otra parte, un aumento poco significativo ($p = 0.572$) en la actividad de la PON1 sérica se observó en los ratones que consumieron zumo de granada comparado con el grupo tratado (157.9238 ± 80.42395 y 128.8969 ± 67.43544), respectivamente. En relación al tiempo se encontró una diferencia significativa ($p = 0.001$) en todos los meses del estudio tanto para el grupo tratado como para el PJ tratado. En el grupo PJ tratado se obtuvo un incremento significativo ($p < 0.05$) de la actividad de la PON1 en el cuarto mes comparado con los meses restantes de estudio y al comparar el mismo grupo con el grupo tratado se observó un incremento significativo de dicha actividad para el cuarto mes ($p = 0.003$), ver Figura 10.

7.2 Peso corporal

Los resultados del peso corporal de los animales en estudio para los tres grupos, muestra un incremento mensual. En los grupos experimentales (tratado y PJ tratado) se observó a los animales obesos como se muestra en la Figura 11.

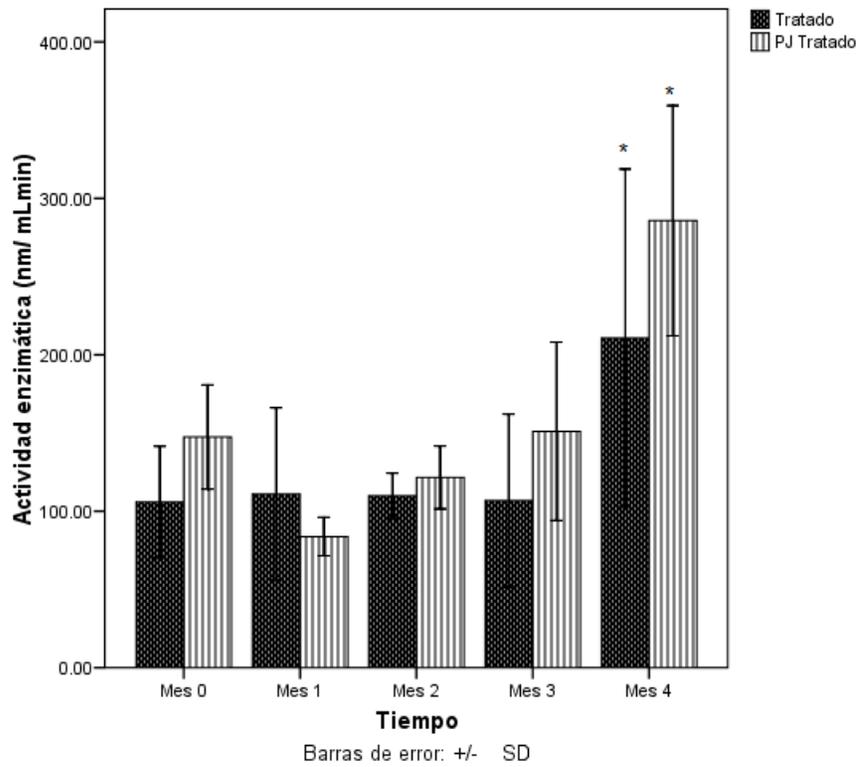


Figura 10. Actividad de la PON1 en el grupo PJ tratado. La actividad paraoxonasa en este grupo de estudio presentó un incremento mensual. Además se percibió una concentración menor en el grupo tratado comparado con el grupo que consumió jugo de granada. El aumento más representativo fue en el cuarto mes (* $p < 0.05$).

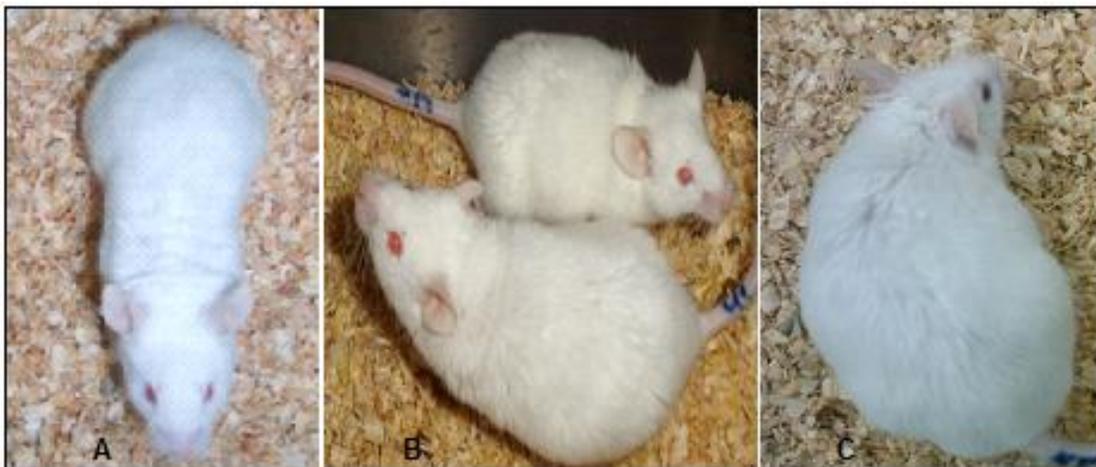


Figura 11. Modelo animal. A) Ratón adulto con peso normal. B) Ratón inducido diabéticamente. Muestran pelo erizado, característica principal de tener afección alguna. C) Ratón inducido diabéticamente con obesidad (peso > 70 gr).

El peso de dichos ratones se incrementó hasta en un 2% en el grupo tratado ($p=0.258$) y 1% en los ratones del grupo PJ ($p=0.880$) con respecto al grupo control. En el grupo control se observó una diferencia significativa entre los dos primeros meses de estudio y el cuarto mes del mismo ($p=0.015$ y $p=0.016$), respectivamente. Figura 12(a). Al comparar el grupo control con el grupo tratado se observaron rangos menores, existe una diferencia significativa ($p<0.05$) para el cuarto mes de estudio, ver Figura 12(b). El grupo que consumió jugo de granada (PJ tratado) mostró semejanza con este grupo, pero en el último mes de estudio se presentó un descenso considerable en el peso de los ratones del grupo PJ tratado ($p<0.05$) como se muestra en la Figura 12(c).

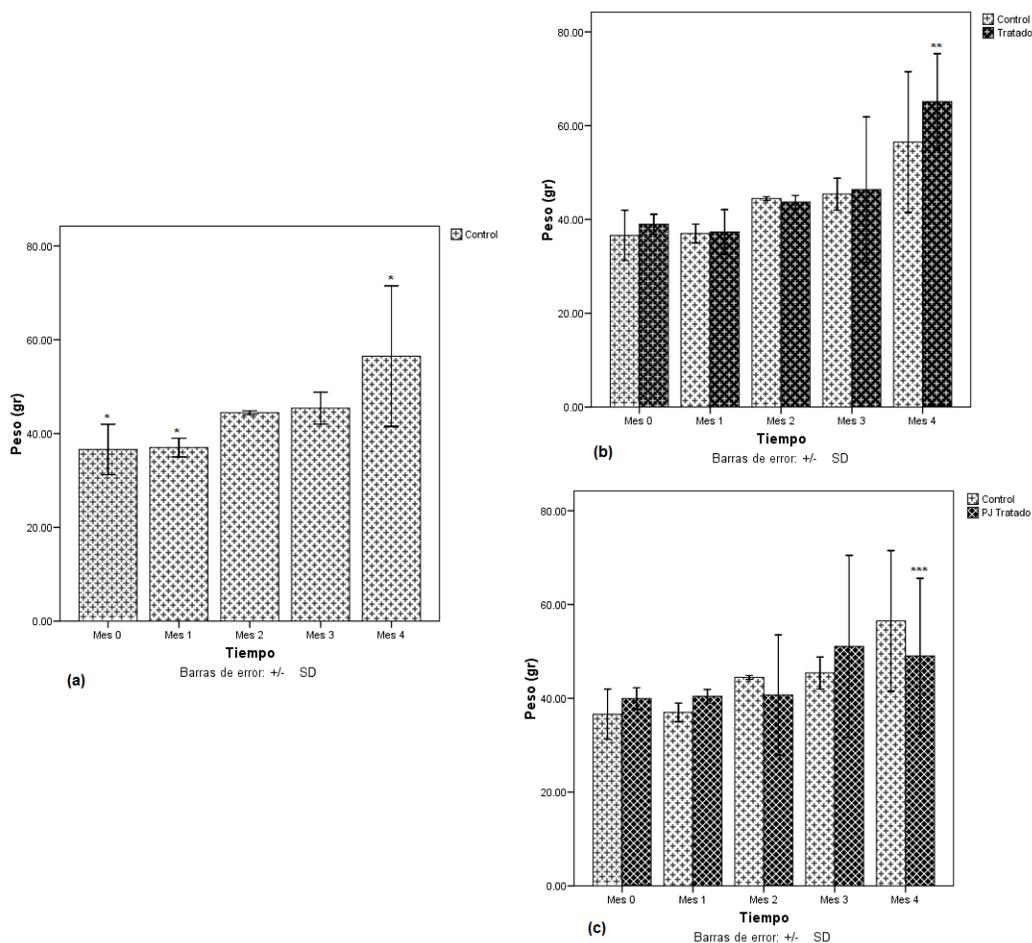


Figura 12. Peso corporal (gr). En el grupo control se observa un incremento mensual en el peso de los ratones (a). Comparación de las medias mensuales entre los grupos de estudio (a y b), respectivamente. El mayor nivel lo proporcionó el grupo tratado (* $p=0.012$ ** $p=0.000$ *** $p=0.003$).

La comparación entre los grupos tratados no mostró diferencia significativa ($p=0.134$), tal como lo indican los datos (46.3133 ± 8.10795 , 44.2333 ± 7.35174) para el grupo tratado y PJ tratado, respectivamente. Sin embargo, al comparar los datos a través del tiempo, se observó para el cuarto mes de estudio se presentó un descenso significativo ($p<0.05$) en el peso de los ratones del grupo que consumieron jugo de granada, como se observa en la Figura 13. Y que además existe una diferencia significativamente entre los primeros meses de estudio y el cuarto mes del mismo ($p=0.001$, $p=0.000$ y $p=0.004$), para el mes de inicio, primer y segundo mes, respectivamente.

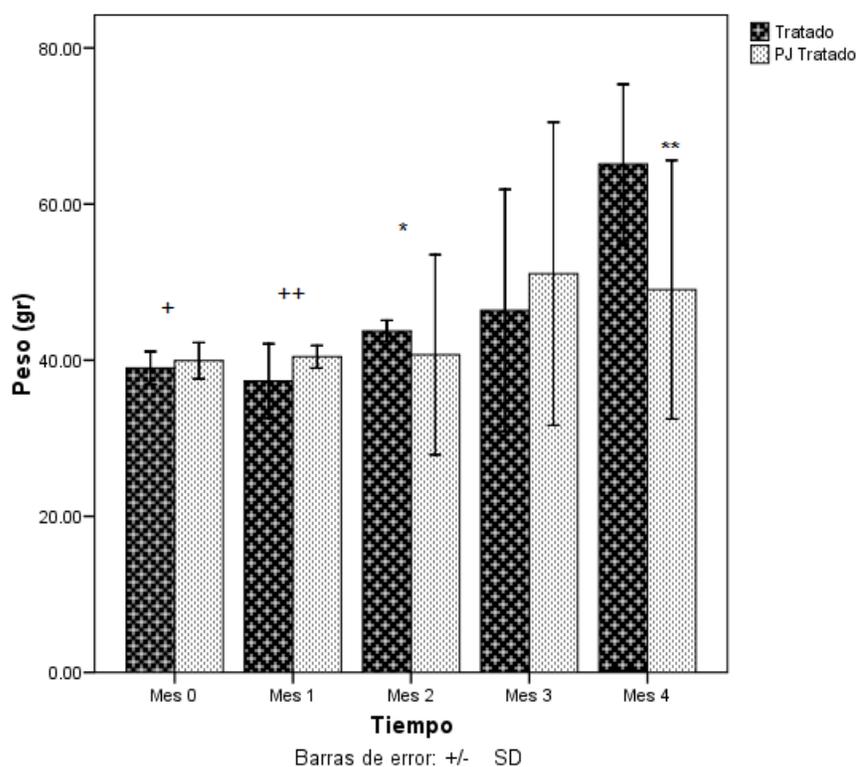


Figura 13. Comparación de peso (gr) entre grupos tratados. Existe igualdad en las medias de cada grupo. En el cuarto mes se observó una disminución significativa (* $p<0.05$) para el grupo que consumió jugo de granada. Además se observó una diferencia significativa entre varios meses de estudio con respecto al cuarto (+ $p=0.001$, ++ $p=0.000$ y * $p=0.004$).

7.3 Indicadores bioquímicos

7.3.1 Glucosa

Los niveles de glucosa de los ratones del grupo control no se modificaron perceptiblemente ($p=0.729$) con el transcurso del tiempo, como se muestra en la Figura 14. Lo que permitió una comparación significativa entre los grupos de estudio, puesto que el grupo control fue considerado como punto de referencia.

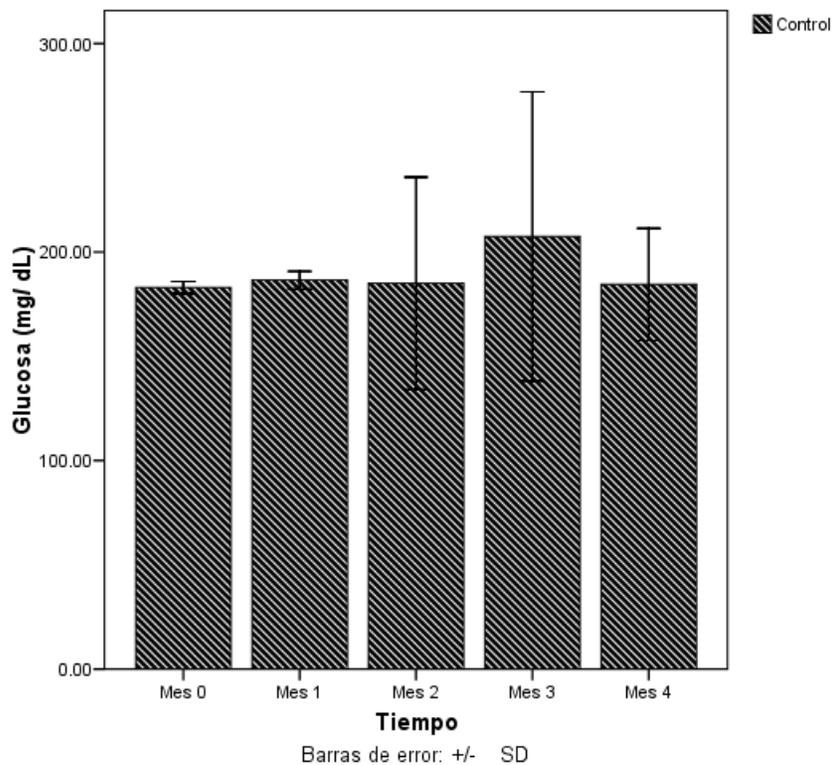


Figura 14. Glucosa (mg/dL). Mediante la comparación de las concentraciones de glucosa por cada grupo de estudio se observó una diferencia principalmente entre el grupo control y el grupo que no recibió jugo de granada.

Con respecto a las concentraciones de glucosa se observó una diferencia significativa entre los grupos de estudio (control, tratado y PJ tratado). Entre los niveles de glucosa de los ratones del grupo control y los del grupo tratado existe una diferencia de $p=0.008$, mientras que para las concentraciones del grupo PJ

tratado la significancia es menor ($p=0.026$). Considerando el tiempo de estudio, se observó una disminución de glucosa en el primer y segundo mes de estudio comparando al grupo control con el tratado, pero no existe significancia ($p=0.071$), ver Figura 15(a). En lo que se refiere al grupo que consumió jugo de granada se pudieron identificar niveles por debajo de los del grupo control, pero la reducción mas significativa se presentó en el tercer mes ($p=0.023$), como se puede observar en la Figura 15(b).

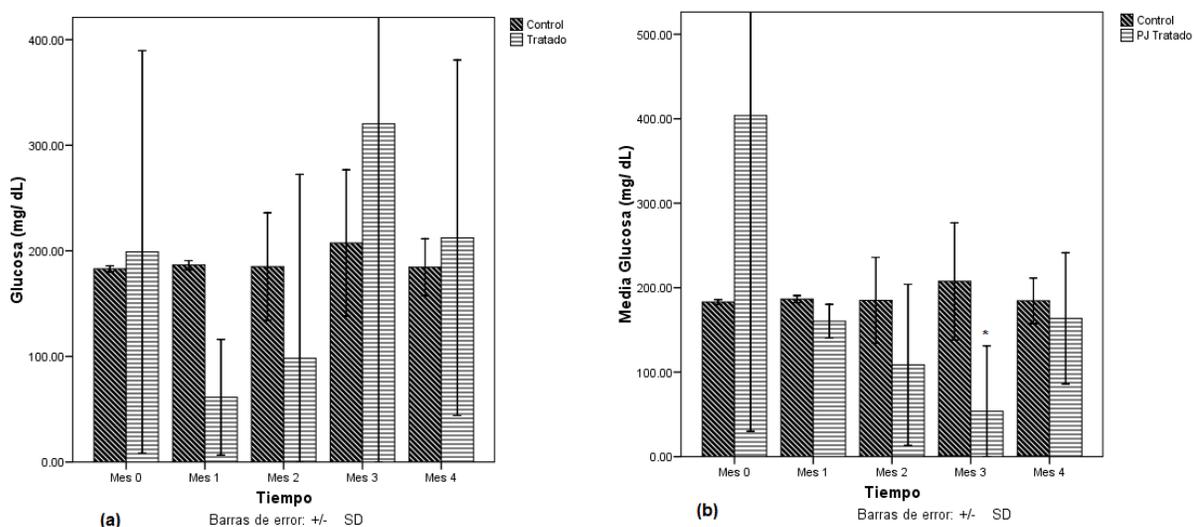


Figura 15. Comparación de las concentraciones de glucosa del grupo control con los grupos tratados. En el grupo tratado se observó una disminución de los niveles de glucosa en el primer y tercer mes de estudio (a). Y además se observó una reducción de los niveles de glucosa en los ratones que consumieron jugo de granada (b) * $p<0.05$.

La comparación entre ratones tratados permitió mostrar que las concentraciones de glucosa en ambos grupos tuvo un comportamiento eventual. Sin embargo, el grupo PJ tratado mostró concentraciones menores aunque no significativas ($p=0.995$) como muestran los datos (178.2667 ± 131.36942 y 178.0000 ± 145.32378), para el grupo tratado y el grupo PJ tratado, respectivamente. En el grupo tratado no se observaron diferencias significativas ($p>0.05$), mientras que las concentraciones de glucosa del grupo PJ tratado si mostraron diferencia ($p<0.005$) en los tres primeros meses de estudio al compararlos con las concentraciones obtenidas al inicio del estudio.

Finalmente, al comparar las concentraciones de ambos grupos, en los dos últimos meses de estudio se observó una disminución en las concentraciones del grupo PJ tratado con respecto al grupo tratado, pero a su vez se observó un incremento en las concentraciones de glucosa del último mes, como se observa en la Figura 16.

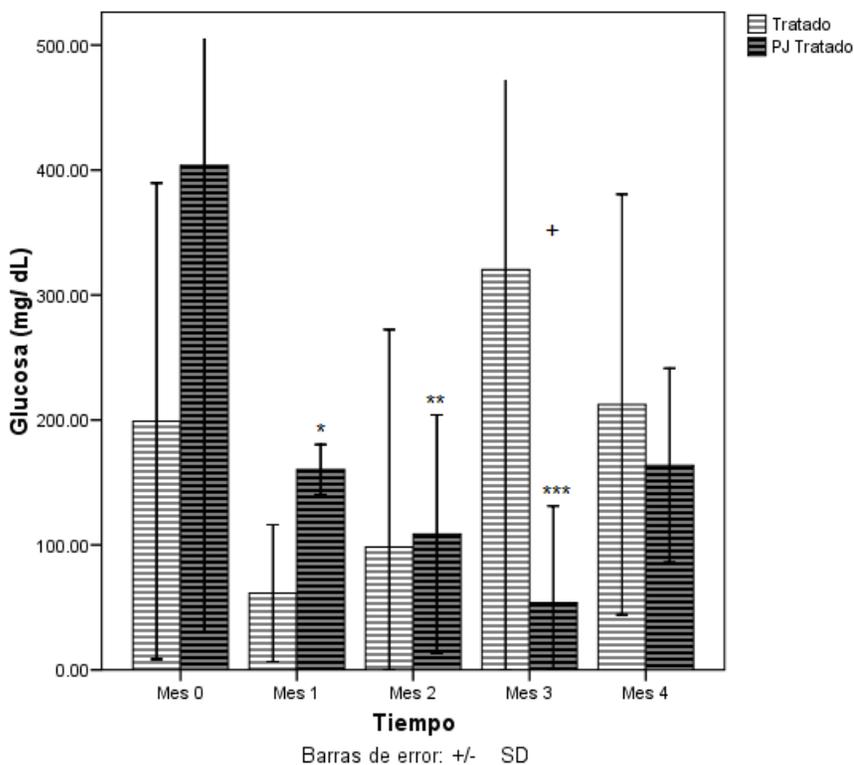


Figura 16. Concentraciones de glucosa sanguínea en los grupos tratados. La grafica muestra las medias de las concentraciones de glucosa por cada grupo en relación al tiempo, el grupo que consumió jugo de granada muestra una reducción en sus niveles (* $p=0.048$, ** $p=0.016$, *** $p=0.005$ y + $p < 0.05$).

7.3.2 Colesterol total

Los niveles de colesterol total (mg/dL) se modificaron notablemente durante el estudio. La concentración de colesterol en los ratones del grupo tratado incrementaron en un 40% ($p=0.043$) con respecto a los ratones del grupo control y los ratones que consumieron jugo de granada únicamente aumentaron dichas concentraciones en un 10% ($p=0.011$), en la Tabla 13 se muestran los valores de las medias y las D.S. por grupos de estudio.

Tabla 13. Colesterol total (mg/dL).

Grupo	N	Valores
Control	10	175.0000 ± 6.34210
Tratado	15	189.8000 ± 18.81565
PJ tratado	15	182.2000 ± 20.88814

Valores: medias ± D.S.
 $p < 0.05$

Las concentraciones de colesterol total de los ratones del grupo control no se modificaron perceptiblemente ($p > 0.05$) con el transcurso del tiempo. En cuanto a los niveles de colesterol total del grupo tratado reflejaron un aumento paulatino hasta el tercer mes de estudio. Los ratones que consumieron jugo de granada (PJ tratado) presentaron elevaciones ocasionales, pero en el cuarto mes se observó una disminución ($p = 0.075$) al ser comparada con el grupo control, ver Figura 17.

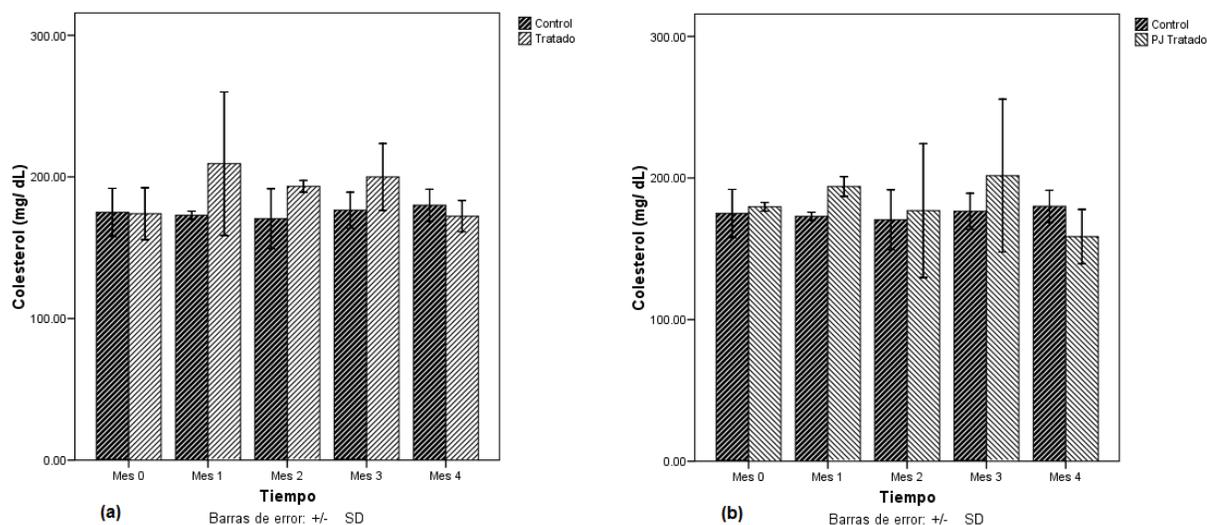


Figura 17. Colesterol total (mg/dL). Los niveles de colesterol total en el tratado control son más elevados que en el resto de los grupos de estudio (a) y a su vez el grupo control presentó concentraciones menores frente al grupo PJ tratado, pero ninguna diferencia fue significativa (b).

Por otra parte, el consumo del jugo de granada redujo un mínimo ($p=0.581$) la concentración del colesterol total en los ratones del grupo PJ tratado frente a los ratones del grupo tratado (182.2000 ± 20.88814 y 189.8000 ± 18.81565), respectivamente. La diferencia significativa fue observada en el momento que se compararon las concentraciones por meses, el cuarto mes fue significativamente diferente al primer y tercer mes de estudio ($p=0.001$ y $p=0.002$), respectivamente y para el cuarto mes de estudio se observó una disminución poco significativa ($p>0.05$) en los niveles de colesterol de los ratones que consumieron jugo de granada, (Figura 18).

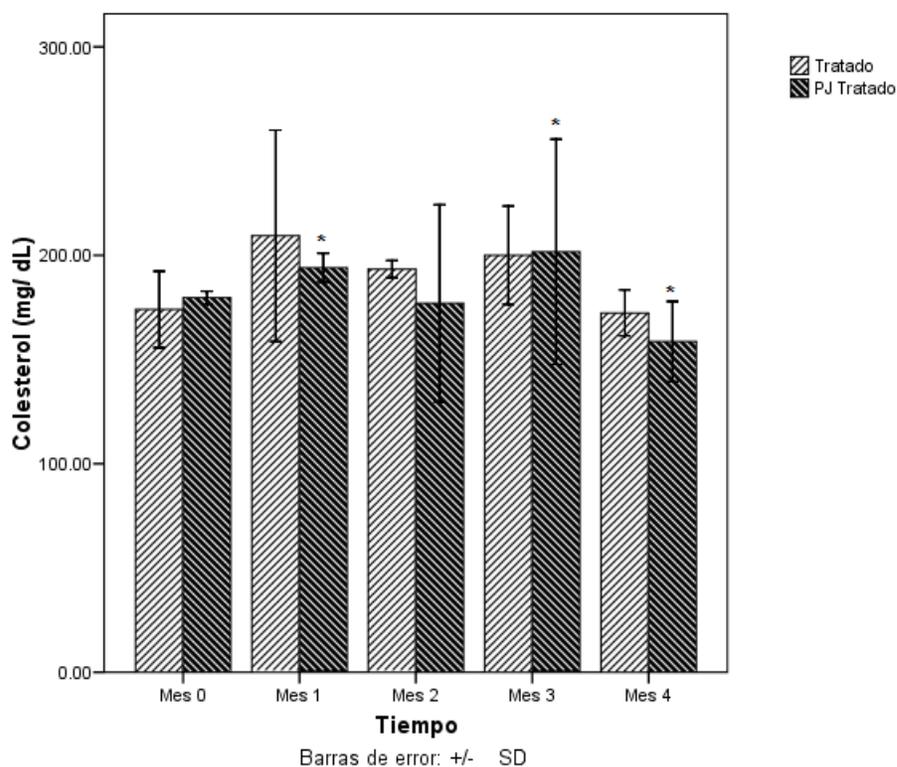


Figura 18. Colesterol total (mg/dL) entre el grupo tratado y PJ tratado. El grupo que consumió jugo de granada mostró concentraciones de colesterol total menores, principalmente en el segundo y cuarto mes (* $p<0.05$).

7.3.3 Triglicéridos

En lo que respecta a las concentraciones de triglicéridos (mg/dL), se observó un incremento mensual, pero los ratones del grupo control siempre mostraron cifras significativamente menores ($p < 0.05$) al ser comparados con los grupos tratados de acuerdo a los datos (257.4000 ± 108.82014 , 360.3333 ± 198.07634 y 340.6000 ± 158.29755), para el grupo tratado y PJ tratado, respectivamente, ver Figura 19.

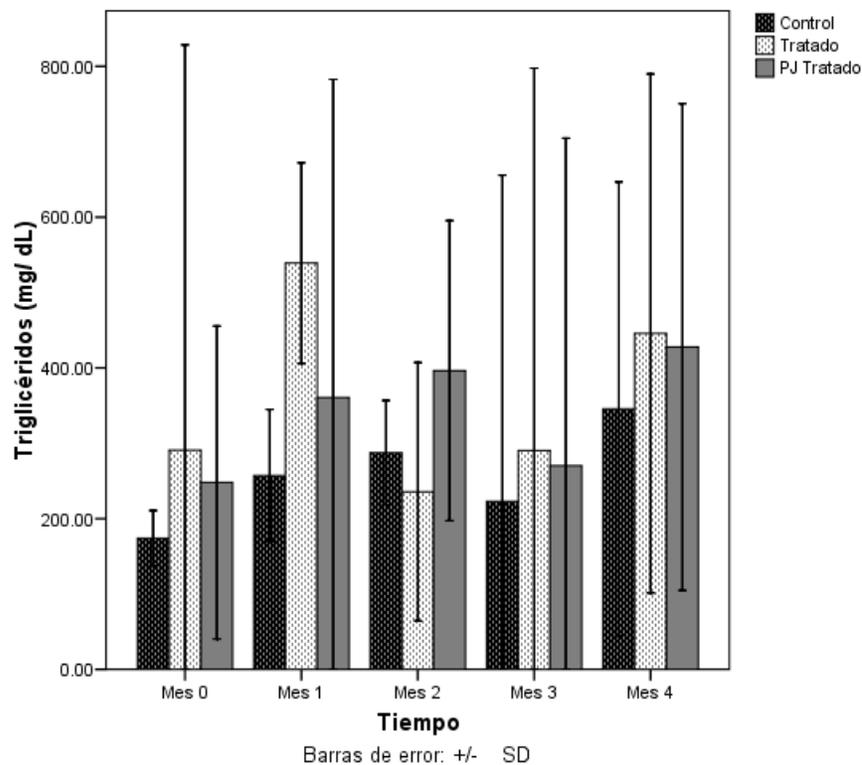


Figura 19. Niveles de triglicéridos sanguíneos (mg/dL). El grupo tratado mostró una elevación en sus concentraciones al ser comparadas con el grupo PJ tratado y al mismo tiempo el grupo control presentó concentraciones menores frente a ambos grupos tratados.

En el momento de comparar los resultados entre los grupos tratados se observó que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los niveles de triglicéridos. No obstante, las concentraciones de triglicéridos correspondientes a los ratones que consumieron jugo de granada son menores a las del otro grupo, como se observa en la Figura 20.

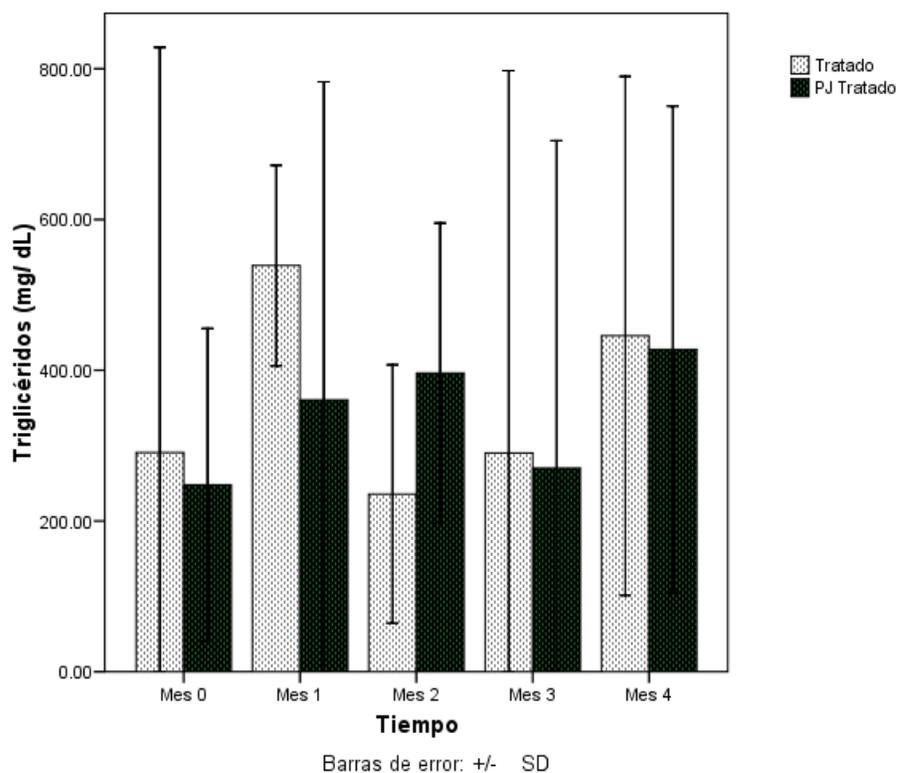


Figura 20. Agrupación de los niveles de triglicéridos sanguíneos (mg/dL) para los grupos tratados. El grupo PJ tratado no mostró diferencia significativa comparada con el grupo tratado. Sin embargo, para el primer mes de estudio se observa una elevación de dichos niveles en el grupo tratado y en el segundo mes una elevación del grupo PJ tratado.

7.4 Relación entre la actividad PON1 y las concentraciones de colesterol total

Debido a que la PON1 se asocia físicamente con las HDL en plasma, se postuló que la cantidad de colesterol total, podría ser uno de los principales parámetros que determinan la actividad enzimática de la PON1. Por lo tanto, en un análisis de correlación, se observó una relación positiva y significativa entre los niveles de colesterol total (mg/dL) con la actividad paraoxonasa (nm/mLmin) ($r=0.421$, $p=0.007$), ver Figura 21.

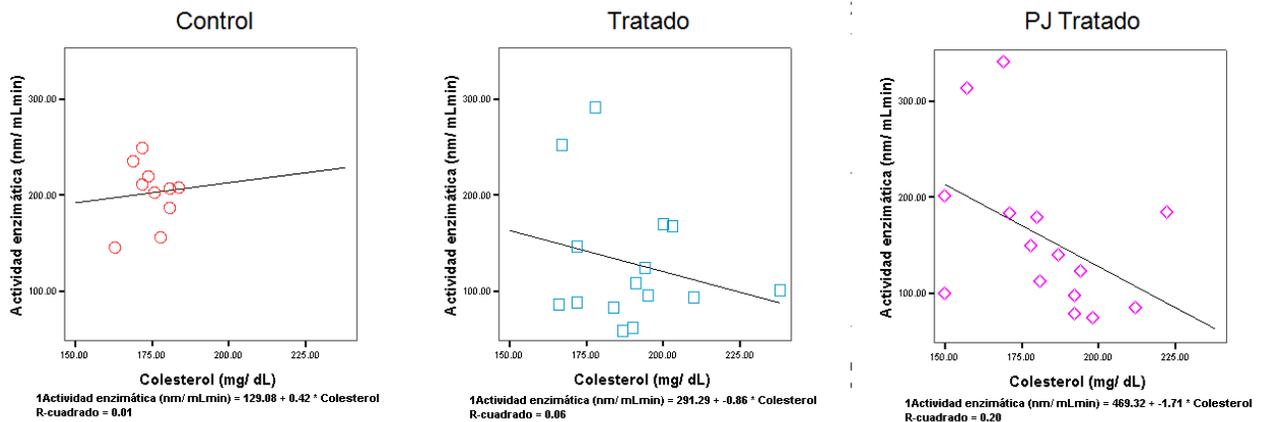


Figura 21. Relación entre concentración de colesterol total y actividad de la PON1. Existe una relación positiva entre ambas variables. A medida que aumentan los niveles de colesterol total, la actividad de la PON1 disminuye y viceversa.

8. DISCUSIÓN

La PON1 es una enzima inducible, ya que diversos estímulos modifican su actividad y expresión.⁽⁵⁵⁾ Las enfermedades relacionadas con la aterosclerosis y también algunos factores como estilo de vida y hábitos alimentarios están relacionados en gran medida con la actividad paraoxonasa.⁽⁵⁵⁻⁶⁴⁾ En este sentido, es importante analizar la actividad o concentración. Sin embargo, hasta ahora son escasos los estudios que relacionan las enfermedades crónicas y la actividad de la paraoxonasa.^(55,43,44,56,57,61) No obstante, algunas observaciones sugieren que la variabilidad de la actividad de la PON1 parece deberse fundamentalmente a factores genéticos, ambientales y estilos de vida.^(47,62-64)

Actualmente, las dietas que se consumen son ricas en azúcares refinados y grasas saturadas lo que aumenta la incidencia de aterosclerosis.⁽⁶²⁾ Considerando el papel antiaterogénico que tiene la PON1^(51,54) y tomando en cuenta las propiedades antioxidantes de la granada.^(69,70) El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del jugo de granada sobre la actividad de la PON1 y su asociación con algunos indicadores bioquímicos como glucosa, colesterol total y triglicéridos en un modelo animal diabetizado y alimentado con una dieta proaterogénica. Nuestros resultados

demonstraron que el consumo diario de jugo de granada estimuló en general y significativamente la actividad de la PON1.

Un estudio realizado por Thomás y Cols, 2007 demostró que ratas Wistar que fueron alimentadas con una dieta alta en grasas (13.5% proteínas, 31.3% hidratos de carbono y 55.2% de grasas) no alteró su peso corporal, pero si aumentó la adiposidad especialmente en ratas machos comparado con un grupo control que recibió dieta estándar (proteínas 18.7%, hidratos de carbono 73.3% y lípidos 8%).⁽⁶²⁾ También, el consumo de la dieta alta en grasa redujo los niveles de triglicéridos en ambos sexos, las concentraciones de glucosa no se modificaron, pero además no se encontraron diferencias entre grupos respecto a las concentraciones de colesterol total, pero fueron menores en las hembras en comparación con los machos. La actividad de PON1 se redujo en ambos sexos, pero con ninguna evidencia de estado inflamatorio mayor.⁽⁶²⁾ Al parecer el mantenimiento de peso corporal, la reducción del consumo de energía y el contenido de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) de la dieta alta en grasas podría ser uno de los factores responsables de la atenuación de los efectos negativos relacionados con la ingesta excesiva de grasa y la reducción de la actividad de la PON1.^(62,77) En el presente trabajo se utilizó una dieta aterogénica con alto contenido de lípidos (hidratos de carbono 42%, proteínas 18%, lípidos 40%), a diferencia del estudio realizado por Thomás y Cols, en este trabajo la dieta no estuvo constituida principalmente de ácidos grasos mono y poliinsaturados (PUFA). También, los animales de ambos grupos tratados presentaron acumulación de grasa en la cavidad abdominal, pero fue menor en los ratones que consumieron jugo de granada. La diferencia se encontró en que los grupos tratados incrementaron su peso con respecto al grupo control, como se observa en la Figura 12. Sin embargo, los ratones que consumieron jugo de granada disminuyeron su peso en el último mes de estudio frente al grupo que únicamente consumió dieta aterogénica (Figura 13), esto posiblemente se debió al control metabólico que los animales alcanzaron después de consumir diariamente el jugo de granada. Con respecto a los niveles de colesterol total, se observó un aumento mensual de las concentraciones para los tres

grupos de estudio. Pero dichas concentraciones siempre fueron menores en el grupo control (Ver Tabla 13) la cual a su vez mostró una reducción significativa en las concentraciones de colesterol de los ratones que consumieron jugo de granada, como se observa en la Figura 15. En cuanto a las concentraciones de triglicéridos no se observaron diferencias significativas entre los grupos tratados, estos datos sugieren que la antiaterogenicidad del jugo de granada está relacionada con su capacidad de atenuar los niveles de colesterol y triglicéridos (riesgos adicionales para el desarrollo de aterosclerosis) lo que apoya a las propiedades antiaterogénicas de la granada reportado en diversos trabajos. ⁽⁶⁹⁻⁷⁵⁾

Se sabe que la diabetes está asociada con el aumento de estrés oxidativo y el desarrollo de la aterosclerosis. ^(56,57,72) En la actualidad, existen estudios realizados, donde se muestra la posible participación de los antioxidantes del jugo de granada con el tratamiento de la diabetes y la aterosclerosis. Todos estos concluyen que el consumo periódico de jugo de granada reduce el estrés oxidativo inhibiendo la peroxidación de los lípidos plasmáticos debido a la presencia de polifenoles. ⁽⁷¹⁻⁷⁵⁾ Un estudio similar al presente, reveló que el consumo de granada no modificó los niveles de glucemia y los niveles lipídicos al comparar a los ratones que consumieron el jugo durante tres meses con los ratones del grupo control. ⁽⁷⁸⁾ En el presente estudio también se investigó el efecto del jugo de la granada sobre los niveles de glucosa sanguínea, en el cual se observó un comportamiento constante en los mismos para el grupo control, pero aleatorio desde el inicio del estudio en los grupos tratados, como se observa en la Figura 14. Esto se debe muy probablemente que aunque los ratones fueron seleccionados de la misma edad, la heterogeneidad genética de los animales, hacen que la respuesta varíe. Cabe señalar que en un inicio se probó una dieta obesigénica alta en carbohidratos (50%), la dieta resultó muy agresiva ya que los animales diabetizados se morían durante el primer mes, incluso en aquellos que recibieron granada (datos no mostrados). Por lo que dicha dieta se suspendió y se probó otra dieta que permitió evaluar la capacidad del jugo de granada. Después de tres meses de consumo diario de jugo de granada se redujeron significativamente

($p < 0.005$) los niveles de glucosa. Para el último mes de estudio se observó un incremento, que posiblemente se debió al incremento de peso y edad de los ratones (Figura 16), sugiriendo que el consumo de jugo de granada (5 mL/ ratón/ tercer día) a pesar de su contenido de azúcares no empeoró las concentraciones de glucosa sanguínea. Un estudio más, pero en humanos resume que el consumo de jugo de granada no afectó las concentraciones de glucemia, colesterol y triglicéridos de las personas con diabetes.⁽⁷²⁾ Además al comparar los grupos de estudio se observó que los niveles séricos de peróxidos lipídicos aumentaron un 50% y la actividad paraoxonasa disminuyó en un 23% para el grupo control.⁽⁷²⁾ Nuestro estudio aunque realizado con animales, mostró una disminución en los niveles de glucosa después del tratamiento con jugo de granada, los niveles de colesterol total mejoraron y la actividad de la PON1 se observó aumentada ($p = 0.031$) en el último mes de estudio al comparar el grupo control con el PJ tratado.

Otro estudio *in vivo* e *in vitro* realizado por Aviram y Cols, 2000 analizó el efecto del jugo de granada sobre la oxidación de las lipoproteínas, la formación de macrófagos, la agregación plaquetaria y la aterosclerosis,⁽⁶⁴⁾ mostró que el consumo de jugo de granada disminuye la susceptibilidad de las LDL a la oxidación e incrementa 20% la actividad de PON1 en suero humano y en animales deficientes de Apo E (ratones E^o) redujo 90% la oxidación de las LDL, este efecto se asoció con la reducción de la peroxidación de lípidos celulares y la liberación de superóxidos. Nosotros encontramos que la actividad aumentó aproximadamente en un 31%, la diferencia al parecer, radica en la duración del estudio y la dosis del jugo de granada, en humanos se utilizaron 50 mL de jugo de granada/ día (1,5 mmol polifenoles totales) durante 2 semanas, de 20-80 mL de jugo de granada/ día (0,54-2,16 mmol polifenoles totales) durante 10 semanas.⁽⁶⁴⁾ Al igual que en nuestro estudio, el anterior dividió a ratones E^o pero de 36 semanas de edad en tres grupos de estudio: uno bebía únicamente agua, los otros recibían 6.25 y 12.5 mL de jugo de granada/ día (0, 0.175 y 0.350 μ mol polifenoles totales) diluido en agua.⁽⁶⁴⁾ Ambos estudios difieren en el tiempo de estudio, puesto que el primero administró el jugo durante 6, 9

y 12 semanas, respectivamente y el presente administró dosis única (12.5 mL de jugo/ 1L agua desionizada) durante 4 meses y solo un grupo de estudio lo consumió.

Un estudio posterior al mencionado con anterioridad retomó la metodología, ya que se realizó en ratones macho E^o los cuales fueron divididos en tres grupos (control, placebo y PJ) para analizar el efecto del jugo de granada sobre el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas y su relación con la actividad de la PON1.⁽⁷⁶⁾ Al igual que en el presente estudio el grupo control y el placebo solo bebían agua y el grupo PJ bebía el jugo de granada diluido en agua (6,25 mL de jugo de granada concentrado/ 1 L. de agua), mientras que en este la cantidad de jugo de granada fue el doble (12.5 mL de jugo/ 1 L. agua desionizada). Se había considerado una cantidad mayor de jugo de granada (10mL de jugo/ ratón), pero se observó que los animales no la bebían ocasionando su muerte por deshidratación o probablemente la cantidad era mucha y sufrían intoxicación porque además se fermentaba con mayor rapidez. Dicho estudio, obtuvo como resultado, la disminución significativa en la oxidación de las LDL y un aumento en la actividad paraoxonasa sérica en los ratones del grupo PJ y sin diferencias significativas entre las concentraciones de colesterol.⁽⁷⁶⁾ Además de que se describió la relación entre las características antiateroscleróticas del jugo de granada con la presencia de una fracción de taninos y antocianinas en este con características antioxidantes.⁽⁷⁶⁾ En nuestro estudio se observó la preservación de la actividad de la PON1 en el grupo control, en el segundo mes de estudio se observó una disminución significativa considerable de la actividad de la PON1, pero en los meses posteriores hubo un incremento, al menos en humanos se ha observado que la actividad aumenta conforme la edad y se estabiliza en edad adulta.^(48,53) Asimismo se observó una disminución en el grupo tratado y una mejora significativa ($p=0.007$) en la actividad de la PON1 en los ratones que consumieron diariamente jugo de granada, ver Figura 9. Estos resultados fortalecen aun más la asociación entre la actividad paraoxonasa y los antioxidantes presentes en el jugo de dicha fruta. Una vez que se compararon los resultados entre grupos tratados, se observó un aumento mensual de la actividad paraoxonasa en los ratones que consumieron diariamente

jugo de granada. Sin embargo, en el primer mes de estudio la actividad de la PON1 fue menor en el grupo PJ tratado en comparación con el grupo tratado. Estos datos pueden estar estrechamente relacionados con los niveles de glucosa puesto que incrementaron en el mismo mes. Puesto que las concentraciones de glucosa reducen la capacidad antioxidante de las HDL, interfiriendo en la actividad de la PON1, a la vez aumentando los marcadores de oxidación.⁽⁵⁹⁾ Pero en el cuarto mes de estudio se obtuvo un incremento significativo ($p < 0.05$) de la actividad paraoxonasa de los ratones que consumieron jugo de granada como se observa en la Figura 10, lo que fortalece la teoría de que el consumo periódico de jugo de granada aumenta la actividad de la PON1. ^(64,76)

Otros resultados obtenidos durante este estudio fueron los encontrados al correlacionar los datos de la actividad paraoxonasa con las concentraciones de colesterol total, en los cuales se observó que la actividad paraoxonasa se disminuye cuando las concentraciones de colesterol aumentan (Figura 21). Ya que la actividad paraoxonasa disminuye a medida que se incrementa el número de alteraciones metabólicas propias del síndrome metabólico, y esta disminución se acompaña de concentraciones progresivamente altas de peróxidos lipídicos, ⁽⁶⁰⁾ factor que puede explicar la relación entre diabetes, obesidad, aterosclerosis y actividad paraoxonasa. ^(57,58,61)

En nuestro laboratorio se está determinando el efecto que tiene el jugo de granada sobre la expresión genética de la PON1 (tesis en proceso), hasta ahora hay una correlación positiva entre la actividad y la expresión de la PON1 (datos no mostrados) lo que sugiere que el PJ está relacionado con la expresión del gen de la PON1. Aunque nosotros no utilizamos un modelo aterogénico se abre la posibilidad de un estudio futuro que correlacione la actividad de la PON1 con su expresión y con la prevención o inhibición del proceso aterogénico.

9. CONCLUSIONES

El tratamiento de animales diabetizados, alimentados con dieta aterogénica y suplementados con jugo de granada arrojó las siguientes conclusiones:

1. Se demostró que el consumo periódico de jugo de granada incrementó la actividad de la PON1 en suero, principalmente después de cuatro meses de tratamiento
2. El jugo de granada después de tres meses de consumo diario disminuyó significativamente el peso corporal y las concentraciones de glucosa en sangre.
3. Después de cuatro meses de consumo periódico de jugo de granada las concentraciones de colesterol total disminuyeron considerablemente al igual que los niveles de triglicéridos sanguíneos.

En conclusión, el consumo de jugo de granada puede ser una alternativa en el tratamiento terapéutico en casos de diabetes y obesidad, así como sus complicaciones, tal es el caso de la aterosclerosis.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asociación Americana de Diabetes (ADA)
Todo sobre la diabetes
Dirección:<http://www.diabetes.org>
Acceso: 07/05/09
Actualización: 2009
2. Federación Mexicana de Diabetes A.C. (FMD)
Inf. General: Historia de la diabetes
Dirección:<http://www.fmdiabetes.org/v2/paginas/diabetes.php?sec=historia&key=1241831049233>
Acceso: 07/05/09
Actualización: 15/04/09
3. Federación Internacional de Diabetes (FID)
Global Guideline
<http://www.idf.org/node/1291?unode=4A18396A-F49A-4E2A-8534CBCC1720A029>
Acceso: 08/05/09
Actualización: 2009
4. Federación Mexicana de Diabetes A.C. (FMD)
Estadísticas de salud
Dirección: http://www.fmdiabetes.org/v2/paginas/d_numeros.php
Acceso: 07/05/09
Actualización: 15/04/09
5. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2005. 28(1):S37-S42.
6. OMS
7. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. Jan 2006. 29(1): S43-S48.

8. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. American Diabetes Association. Position Statement. *Diabetes Care*. 2005.28(1):S37-S42
9. Hernández –Valencia, M y Zárata, A. Conceptos recientes en la etiopatogenia de la diabetes gestacional. *Ginecol Obstet Mex*. 2005. 73:371-7.
10. Ryan, EA. Hormones and insulin resistance during pregnancy. *Lancet*. 2003.362:1-3.
11. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183–1197
12. American Diabetes Association. International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. July 2009.32:7.
13. Mazze, R. Strock, E., Simonson, G., Bergenstal, R. y Rodríguez, S.J. Manejo de diabetes por etapas, Guía Rápida. Prevención, detección y tratamiento de diabetes en adultos, 4ª ed. Matrex Salud, México. 2006.
14. Federación Internacional de Diabetes (FID)
Metabolic syndrome
Dirección: <http://www.idf.org/metabolic-syndrome>
Acceso: 08/05/09
Actualización: 2009
15. Asociación Nacional de Cardiólogos de México, AC. Consenso mexicano sobre el Tratamiento Integral del Síndrome Metabólico. *Rev Mex Cardiol*. 2002.13(1): 4-30
16. Casanueva E., Kaufer HM, Pérez LA, y Arroyo P, 2001. Obesidad en adultos. En: *Nutriología Médica*. 2 ed. Editorial Médica Panamericana, S.A. México, D.F. p.p.284-285.
17. World Health Organization. Obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, Switzerland. *WHO*. Geneva, Switzerland: June 1998.

18. Organización Mundial de la Salud
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr44/es/index.html>
Acceso: 29 de octubre 2009
Actualización: 2009
19. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Resumen ejecutivo. México: Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 2006.
20. Bray, GA., Bouchard, C. y James, WPT. Definitions and proposed current classification of obesity. En: Bray GA., Bouchard, C., James, WPT, editors. *Handbook of obesity*. New York: Marcel Dekker Inc; 1997. p.p. 31-40.
21. Vague, J. the degree of masculine differentiation of obesities: a fact for determining predisposition of diabetes, atherosclerosis, gout and uric calculus diseases. *Am J Clin Nutr*. 1956; 4:20-34.
22. National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. Evidence report. Washington DC: US Department of Health and Human Service; 1998.
23. Norma Oficial Mexicana NOM-174-SSA1-1998. Para el Manejo Integral de la Obesidad. *Diario Oficial de la Federación*. México, 2001
24. Berber, A., Gómez-Santos, R., Fanghanel, G., *et al*. Anthropometric indexes in the prediction of type 2 diabetes mellitus, hypertension and dyslipidemia in a Mexican population. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25(12):1794-9
25. Howard, BV., Rutolo, G. y Robbins, DC. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003; 32(4):855-67.
26. Nielsen, S., Guo, Z., Johnson, CM., *et al*. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest*. 2004; 113(11):1582-8.
27. Troyo-Barriga, P. Obesidad y dislipidemias. *Gac Méd Méx*. 2004; 140(2):S48-S58.
28. Brousseau, ME., Shaefer, EJ., Wolfe, ML., *et al*. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med*. 2004; 350(15):1505-15.

29. Purnell, JQ., Kahn, SE., Schwartz, RS., *et al.* Evidence for genetic control of elevated lipid and Apo B levels, in addition to visceral obesity/insulin resistance in FCHL. *J Invest Med.* 1997; 45:105A.
30. Guerra, R., Wang, J., Grundy, SM., *et al.* A hepatic lipase (LIPC) allele associated with high plasma concentrations of high density lipoprotein cholesterol. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1997; 94(9):4532-7.
31. Stary, HC. Atlas of atherosclerosis. Progression and regression. Terminology in atherosclerosis and classification of lesion according to their pathways of development. Boca Raton, Fla. EUA. The Parthenon Publishing Group. 2nd edition. 2003:16-18.
32. Ross, R. The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature.* 1993; 362:801-9.
33. Gustafsson, M. y Borén, J. Mechanism of lipoprotein retention by the extracellular matrix. *Curr Opin Lipidol.* 2004; 15:505-14.
34. Navah, M., Berliner, JA., Hama, S., Terri to MC, Lusis, AJ., *et al.* The yin and the yang of the oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb vasc Biol.* 1996; 16:831-42.
35. Tedgui, A. y Mallat, Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Circ Res.* 2001; 88:877-887.
36. Galis, ZS., Khatri, JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis. The Good, the bad, and the Ugly. *Circ Res.* 2002; 90:25-262.
37. Bosch, X., Alfonso, A. y Bermejo, J. Diabetes y enfermedad cardiovascular. Una mirada hacia la nueva epidemia del siglo XXI. *Rev Esp Cardiol.* 2002; 55:525-527.
38. Velázquez-Monroy, O., Rosas, M., Lara, A., Pastelín, G., Hernández, C., Sánchez, A., *et al.* Prevalencia e interrelación de enfermedades crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México. *Arch Inst Cardiol Mex.* 2003; 73(1):62-77.

39. Baena-Diez, J., Álvarez, B., Piñol, P., Martín, R., Nicolau, M. Y Atlas, A. Asociación entre la agrupación de factores de riesgo cardiovascular y el riesgo de enfermedad cardiovascular. *Rev Esp Salud Pub.* 2002; 76(1): 07-15.
40. Enrique-Caballero A. Endotelial dysfunction in obesity and resistance: a road to diabetes and heart disease. *Obesity Res.* 2003; 11:1278-89.
41. Casanueva E., Kaufer HM, Pérez LA, y Arroyo P, 2001. Enfermedades cardiovasculares y nutrición. En: *Nutriología Médica*. 2 ed. Editorial Médica Panamericana, S.A. México, D.F. p.p.312-326
42. Havel, JR. Origin, metabolic fate and metabolic function of plasma lipoprotein. Edit Olefky J. Churchill & Livingstone. *Endocrinology and Metabolism*. New York 1987; 3:117 – 141
43. Sentí, M., Tomàs, M., Elosua, R., y Marrugat, J. Interrelationship of serum paraoxonase activity and paraoxonase genetic variants on atherosclerosis risk. *Contributions to Science*, Barcelona, 2000; 1(3): 323-329.
44. Rodríguez-Esparragón, F., Hernández-Trujillo, Y., Macías-Reyes, A., Hernández-Ortega E., Medina, A. y Rodríguez-Pérez, JC. Sobre los genes paraoxonasa-1 y *SR-B1*, y su importancia en la aterosclerosis. *Rev Esp Cardiol.* 2006; 59:154-64.
45. Getz, GS. y Reardon, CA. Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. *Curr Opin Lipidol.* 2004; 15:261-7.
46. Mackness, MI., Mackness, B., Durrington, PN., Conelly, PW. y Hegele, RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol.* 1996; 7:69-76.
47. Ferré, N., Camps, J. y Joven, J. Paraoxonasas, acción antioxidante de las HDL y respuesta inflamatoria. *Cardiovascular risk factor.* 2004; 12(3): 106-107.
48. Primo-Parmo, SL., Sorenson, RC., Teiber, J. y La Du, BN. The human paraoxonase/ arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics.* 1996; 33: 498-507

49. Aviram, M., Billecke, S., Sorenson, R., Bisgaier, C., Newton, R., Rosenblat, M., Eroglu, J., Hsu, C., Dunlop, C. y La Du, B. Paraoxonase active site requires for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/ paraoxonase activities. Selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18: 1617-1624.
50. La Du BN. Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med.* 1996; 2:1186 –1187.
51. Durrington, PN., Mackness, B. y Mackness, MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21:473-480.
52. Aviram, M., Hardak, E., Vaya, J., Mahmood, S., Milo, S., Hoffman, A., Billecke, S., Draganov, D. y Rosentblat, M. Human serum paraoxonases (PON1) Q y R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerosis lesions: Pon1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation.* 2000; 101:2510-1517.
53. Humbert, R., Adler, DA., Disteché, CM., Hassett, C., Omiecinski, CJ. y Furlong, CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993; 3:73–76.
54. Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, CL., Newton, RS., Primo-Parmo, SL, La Du, BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest.* 1998; 101: 1581-1590.
55. Tomás, M., Latorre, G., Sentí, M. y Marrugat, J.. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: Un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. *Rev Esp Cardiol.* 2004; 57:557-69.
56. Mackness, B., Durrington, PN., Boulton, AJ., Hine, D. y Mackness, MI. Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32:259-64.

57. Kopprasch, S., Pietzsch, J., Kuhlisch, E. y Graessler, J. Lack of association between serum paraoxonase 1 activities and increased oxidized low-density lipoprotein levels in impaired glucose tolerance and newly diagnosed diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88:1711-6.
58. Abbott, CA., Mackness, MI., Kumar, S., Boulton, AJ. y Durrington, PN. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15:1812-8. Thomàs-Moyá, E., Gianotti, M., Proenza, AM. y Lladó, I. Paraoxonase 1 Response to a High-Fat Diet: Gender Differences in the Factors Involved. *Mol Med.* 2007; 13 (3-4): 203-209.
59. Hedrick, CC., Thorpe, SR., Fu, MX., Harper, CM., Yoo, J., Kim, SM., *et al.* Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia.* 2000; 43:312-20.
60. Sentí, M., Tomás, M., Fitó, M., Weinbrenner, T., Covas, MI., Sala, J., *et al.* Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5422-6.
61. Beltowski, J., Wojcicka, G. y Jamroz, A. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. *Atherosclerosis.* 2003; 170:21-9. Jarvik, GP., Trevanian, N., McKinstry, LA., Wani, R., Brophy, VH., Richter, RJ., *et al.* Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler thromb vasc Biol.* 2002; 22:1329-1333.
62. Thomàs-Moyá, E., Gianotti, M., Proenza, AM. y Lladó, I. Paraoxonase 1 Response to a High-Fat Diet: Gender Differences in the Factors Involved. *Mol Med.* 2007; 13 (3-4): 203-209.
63. Jarvik, GP., Trevanian, N., McKinstry, LA., Wani, R., Brophy, VH., Richter, RJ., *et al.* Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler thromb vasc Biol.* 2002; 22:1329-1333.

64. Aviram, M.; Dornfeld, L.; Rosenblat, M.; Volkova, N.; Kaplan, M.; Coleman, R.; Hayek, T.; Presser D, y Fuhrman, B. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am Clin Nutr.* 2000. 71:1062-76.
65. Botanical-Online SL
Glosario de plantas
Dirección: <http://www.botanical-online.com>
Acceso: 14/05/2009 Actualización: 27/04/2009
66. Infoagro System SL.
Cultivo del granado
Dirección: http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/granado.htm
67. SIAP 2005. Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera
Dirección: <http://www.siap.gob.mx>
Acceso: 15/05/2009
68. Portal OEIDRUS Hidalgo
Estadísticas agrícolas
Dirección: <http://www.campohidalguense.gob.mx>
Acceso: 18/11/2009
Actualización: 2009
69. García-Viguera, C. y Pérez-Vicente, A. La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. *Alim. Nutri. Salud.* 2004; 11(4):113-120.
70. Gil, Ml., Tomás-Barberán, FA., Hess-Pierce, B., Holcroft, DM. y Kader, AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 4581-9.
71. Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D., *et al.* Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin Nutr.* 2004; 23:423-33.

72. Rosenblat, M., Hayek, T. y Aviram, M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis*. 2006; 187: 363–371.
73. Rosenblat, M., Volkova, N., Coleman, R. y Aviram, M. Pomegranate Byproduct Administration to Apolipoprotein E-Deficient Mice Attenuates Atherosclerosis Development as a Result of Decreased Macrophage Oxidative Stress and Reduced Cellular Uptake of Oxidized Low-Density Lipoprotein. *J. Agric. Food Chem.* 2006. 54:1928-1935
74. Sumner, MD., Elliott-Eller, M., Weidner, G., Daubenmier, JJ., Chew, MH., Marlin, R., Raisin, CJ. y Ornish, D. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *Am. J. Cardiol.* 2005; 96: 810-814.
75. Rozenberg, O., Howell, A. y Aviram, M. Pomegranate juice sugar fraction decreases, while grape juice sugar fraction increases macrophage oxidative state. *Atherosclerosis*. 2006;185.
76. Kaplan, M.; Hayek, T.; Raz, A.; Coleman, R.; Dornfeld, L.; Vaya, J. y Aviram, M. Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. *J. Nutr.* 2001; 131: 2082-2089.
77. Lyon, CJ.; Law, RE. y Hsueh, WA. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology*. 2003; 44:2195-200.
78. Basu, A. y Penugonda, K. Pomegranate juice: a heart-healthy fruit juice. *Nutrition Reviews*. 2008; 67(1):49–56.

ANEXOS

Anexo 1. Requisitos ambientales y parámetros fisiológicos en ratones

Requisitos ambientales	
Temperatura (°C)	20-24
Humedad relativa (%)	50-60
Ventilación (cambios/ hora)	15
Luz/ oscuridad (horas)	12-14/ 12-10

Parámetros fisiológicos	
Peso adulto (g)	
Macho	25-40
Hembra	20-40
Superficie corporal (cm ²)	20g: 36
Consumo de comida (g/ día)	4-5
Consumo de agua (mL/ 100 g/ día)	15

Parámetros sanguíneos y bioquímicos	
Volumen de sangre (mL/ Kg)	76-80
Glucosa (mg/ 100 mL)	89 (63-176)
Colesterol total	64 (26-82)

Fuente: Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal, 2005.

Anexo 2. Alimento Teklad Global para roedores, esterilizable 2018S

Registro SAGARPA	Exento
Análisis garantizado (materia seca)	
Proteína cruda (mínimo)	18%
Grasa cruda (mínimo)	5%
Fibra cruda (máximo)	5%

Actualización: 12 de abril de 2004