

## INDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>INTRODUCCION GENERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>1. DIABETES: ASPECTOS GENERALES.....</b>	<b>1</b>
1.1 Definición.....	1
1.2 Tipos de diabetes.....	1
1.2.1 Diabetes insulínoddependiente o tipo 1.....	1
1.2.2 Diabetes no insulínoddependiente o tipo 2.....	2
1.3 Epidemiología.....	2
1.4 Alteraciones metabólicas en la diabetes tipo 1.....	3
1.5 Complicaciones crónicas más frecuentes de la diabetes.....	4
1.5.1 Retinopatía.....	4
1.5.2 Nefropatía.....	4
1.5.3 Neuropatía.....	5
1.5.4 Enfermedades cardiovasculares.....	5
<b>2. FACTORES ATEROGENICOS DE LA DIABETES.....</b>	<b>7</b>
2.1 Factores aterogénicos mediados por la hiperglucemia.....	7
2.1.1 Ruta de la aldosa reductasa.....	8
2.1.2 Activación de la proteína quinasa C (PKC).....	8
2.1.3 Glucosilación no enzimática de proteínas.....	9
2.1.4 Estrés oxidativo.....	14
2.2 Factores aterogénicos mediados por la dislipemia diabética.....	14
2.2.1 Hipertrigliceridemia.....	15
2.2.2 Reducción de HDL.....	15
2.2.3 Incremento en la proporción de LDL pequeñas y densas.....	16
2.2.4 Incremento en los niveles de lipoproteína a.....	16
2.3 Factores aterogénicos mediados por la resistencia insulínica: síndrome X.....	16
<b>3. ESTRES OXIDATIVO.....</b>	<b>17</b>
3.1 Radicales libres.....	17
3.2 Fuentes de radicales libres.....	18
3.3 Sistemas antioxidantes.....	21
3.3.1 Antioxidantes enzimáticos: .....	21
Superóxido dismutasa, Catalasa, Glutation peroxidasa.....	22
3.3.2 Antioxidantes no enzimáticos: .....	24

	<i>Hidrosolubles: Glutation, Vitamina C, Acido úrico, Flavonoides.....</i>	25
	<i>Liposolubles: Vitamina E, Carotenoides y Vitamina A, Ubiquinol, Bilirrubina, Estradiol.....</i>	29
	<i>Moléculas quelantes de iones metálicos.....</i>	36
3.4	Efectos de los radicales libres sobre los lípidos: peroxidación lipídica.....	36
4.	EFFECTOS DE LAS LDL OXIDADAS EN EL PROCESO ATEROGENICO.....	41
5.	DIABETES Y ESTRES OXIDATIVO.....	47
5.1	Evidencia de un elevado estrés oxidativo en la diabetes.....	47
5.2	Factores que podrían producir un elevado estrés oxidativo en la diabetes.....	48
5.2.1	Hiperglucemia.....	49
5.2.2	Alteraciones en el metabolismo lipídico.....	52
5.2.3	Alteraciones en el metabolismo de antioxidantes.....	53
	<b>OBJETIVOS GENERALES.....</b>	<b>54</b>
	<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>55</b>
1.	AISLAMIENTO DE LIPOPROTEINAS.....	55
2.	DETERMINACIONES BIOQUIMICAS.....	55
2.1	Determinaciones en plasma y LDL.....	55
2.1.1	Desproteinización del plasma.....	55
2.1.2	Glucosa.....	55
2.1.3	Cuerpos cetónicos. $\beta$ -hidroxibutirato.....	56
2.1.4	Hemoglobina glucosilada.....	56
2.1.5	Fructosamina.....	56
2.1.6	Triglicéridos y colesterol.....	56
2.1.7	Proteína.....	56
2.1.8	Vitamina E y vitamina A en plasma y LDL.....	57
2.1.9	Cinéticas de formación de dienos conjugados.....	59
2.1.10	Determinación de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) en LDL.....	60
2.1.11	Movilidad electroforética de lipoproteínas.....	61
2.2	Determinaciones en tejidos.....	62
2.2.1	Vitamina E, vitamina A y vitamina A palmitato en hígado.....	62
2.2.2	Determinación de lípidos totales en hígado.....	63
2.2.3	Determinación de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) en hígado y riñón.....	64

2.2.4	Extracción de lípidos para la separación y cuantificación de las distintas fracciones lipídicas y análisis de la composición en ácidos grasos del hígado.....	64
2.2.5	Separación y cuantificación de las distintas fracciones lipídicas en hígado.....	64
2.2.6	Análisis de la composición en ácidos grasos del hígado.....	70
3.	ANALISIS HISTOLOGICO DE LAS AORTAS.....	72
3.1	Extracción de la aorta y procesamiento.....	72
3.2	Histoquímica: detección de depósitos lipídicos en la pared vascular.....	72
3.3	Inmunohistoquímica: detección de macrófagos en la pared vascular.....	73
4.	ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS.....	74
<b>CAPITULO I.....</b>		<b>75</b>
<b><i>Factores aterogénicos en adolescentes con diabetes mellitus tipo 1</i></b>		
1.	INTRODUCCION.....	75
2.	HIPOTESIS.....	76
3.	OBJETIVOS.....	76
4.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	77
4.1	Sujetos estudiados.....	77
4.2	Recogida de muestras.....	77
4.3	Análisis estadístico de los datos.....	77
5.	RESULTADOS.....	78
5.1	Características de los sujetos estudiados y control metabólico de los pacientes diabéticos.....	78
5.2	Perfil lipídico.....	79
5.3	Cinéticas de oxidación de las LDL.....	79
5.4	Vitaminas antioxidantes.....	81
6.	DISCUSION.....	83
<b>CAPITULO II.....</b>		<b>86</b>
<b><i>Efectos de la glucosa en la oxidación de las LDL</i></b>		
1.	INTRODUCCION.....	86
2.	HIPOTESIS.....	86
3.	OBJETIVOS.....	87

4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	87
5. RESULTADOS.....	89
5.1 Efectos de concentraciones elevadas de glucosa en la oxidación de LDL.....	89
5.2 Efectos de diferentes concentraciones de glucosa en el proceso de oxidación....	92
5.3 Efectos de la adición de glucosa a diferentes tiempos una vez iniciado el proceso oxidativo.....	94
5.4 Efectos de la glucosa en ausencia de cloruro cúprico.....	95
5.5 Posibles interferencias de la glucosa en la lectura de absorbancias a 234 nm.....	95
6. DISCUSION.....	97
<b>CAPITULO III.....</b>	<b>101</b>
<i>Efectos del ácido ascórbico, dehidroascórbico y flavonoides en la oxidación de las LDL</i>	
1. INTRODUCCION.....	101
2. HIPOTESIS.....	102
3. OBJETIVOS.....	102
4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	102
5. RESULTADOS.....	104
5.1 Efectos del ácido ascórbico y dehidroascórbico en el consumo de vitamina E.....	104
5.2 Efectos del ácido ascórbico, dehidroascórbico y flavonoides en LDL sometidas a diferentes grados de oxidación .....	106
6. DISCUSION.....	110
<b>CAPITULO IV.....</b>	<b>114</b>
<i>Efectos de la diabetes y la vitamina E en el desarrollo de aterosclerosis en el ratón BALB/c (modelo experimental de aterosclerosis en la diabetes)</i>	
1. INTRODUCCION.....	114
2. HIPOTESIS.....	115
3. OBJETIVOS.....	115
4. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	115
4.1 Animales y condiciones ambientales.....	115
4.2 Dietas experimentales.....	116

---

4.3	Diseño experimental del modelo animal de aterosclerosis.....	116
4.4	Recogida de muestras.....	118
4.5	Análisis de los depósitos lipídicos de la pared vascular de la aorta.....	118
4.6	Análisis estadístico de los datos.....	118
5.	RESULTADOS.....	119
5.1	Parámetros corporales .....	119
5.2	Supervivencia de los animales.....	121
5.3	Parámetros plasmáticos relacionados con el control metabólico de la diabetes ..	122
5.4	Parámetros relacionados con el metabolismo lipídico en plasma.....	123
5.5	Parámetros de metabolismo lipídico en hígado.....	124
5.6	Composición de ácidos grasos en hígado.....	126
5.7	Parámetros de estrés oxidativo.....	130
5.8	Parámetros histoquímicos. Depósitos lipídicos en la pared vascular.....	133
5.9	Parámetros inmunohistoquímicos. Detección de macrófagos en la pared vascular.....	139
6.	DISCUSION.....	142
<b>CONCLUSIONES .....</b>		<b>150</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>		<b>152</b>