

Inflamación, estrés oxidativo y arteriosclerosis

DESARROLLO METODOLÓGICO PARA EL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VITRO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS NATURALES

S. Fernández, L. Pons, M. Heras, R. Rosales, J.C. Vallvé, J. Girona, L. Masana y R. Solà

Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi. (CIBERDEM). Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Universitat Rovira i Virgili. Reus.

Introducción: El proceso inflamatorio es un estadio intermedio de la patogenia de la arteriosclerosis. Uno de sus marcadores fisiopatológicos de la actividad antiinflamatoria es la secreción de la citoquina *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) por parte de los monocitos. Los modelos celulares *in vitro* descritos hasta el momento son poco reproducibles

Objetivo: Optimizar un modelo de monocitos *in vitro* reproducible para evaluar la actividad antiinflamatoria de diferentes compuestos bioactivos naturales.

Métodos: Monocitos THP-1 se incuban 1 hora con el compuesto y posteriormente se estimulan 4 horas con *Lipopolysaccharide* (LPS), en presencia de suero bovino y se determinan los niveles de TNF- α (ELISA) secretado en el medio, y la expresión génica celular, mRNA-TNF- α . El efecto antiinflamatorio del compuesto es la diferencia entre los niveles de TNF- α de las células incubadas con éste y las estimuladas únicamente con LPS.

La inestabilidad de los monocitos obliga al estudio de su crecimiento para decidir el día de post-congelación en el que se trabaja. Además se estandariza: número de células/pocillo, concentración de suero, disolución y concentraciones de los compuestos, homogenización del LPS, concentración de LPS, etc. La reproducibilidad se valora mediante los Coeficientes de Variación (CV).

Resultados: Se han obtenido CV intra e interensayo inferiores a los esperados en cultivos celulares, CV < 10% a nivel de proteína del TNF- α , a excepción de valores bajos. Los CV para mRNA-TNF- α están optimizándose.

Conclusión: La estandarización de la metodología consigue un modelo de monocitos *in vitro* reproducible que permite el estudio de la actividad antiinflamatoria de compuestos bioactivos naturales.

DESARROLLO METODOLÓGICO PARA EL ESTUDIO DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL IN VITRO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS NATURALES

L. Pons, M. Heras, J. Girona, S. Fernández, R. Rosales, J.C. Vallvé, L. Masana y R. Solà

Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi. (CIBERDEM). Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Universitat Rovira i Virgili. Reus.

Introducción: Las lesiones ateroscleróticas producen citoquinas proinflamatorias como el *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α)

que inducen la expresión de moléculas como *Vascular Cell Adhesion Molecule* (VCAM-1) en el endotelio vascular. Un incremento en la expresión de estas moléculas, tanto plasmáticas como endoteliales, es un indicador selectivo de disfunción endotelial. Aunque muchos modelos celulares analizan la VCAM-1 en membrana, nuestro interés es detectar la VCAM-1 secretada al medio (sVCAM-1).

Objetivo: Implementar un modelo de células endoteliales de aorta humana *in vitro* que permita determinar sVCAM-1 para evaluar los efectos de compuestos bioactivos naturales sobre la disfunción endotelial.

Métodos: Human Aortic Endothelial Cells (HAEC) se incuban 6h con el compuesto y posteriormente se estimulan con TNF- α (10 ng/mL) durante 24h. Se cuantifican los niveles de sVCAM-1 (ELISA), la proteína celular total por el método de Bradford y la expresión génica mRNA-VCAM-1 mediante RT-PCR a tiempo real.

El control de inhibición es BAY 11-7082 (1 mM).

Los resultados se expresan en ng sVCAM-1/mg proteína.

Resultados: El TNF- α aumenta la proteína sVCAM-1 (media \pm DS; 107 \pm 24 ng/mg) respecto al blanco (24 \pm 9 ng/mg) (p < 0,05).

El BAY 11-7082 inhibe el 40% el efecto del TNF- α (p < 0,05).

El estudio de la expresión génica confirma los resultados obtenidos a nivel de proteína (p < 0,05).

Conclusión: La determinación de sVCAM-1 por HAEC se puede utilizar como marcador para el estudio de los efectos de compuestos bioactivos sobre disfunción endotelial.

DIETA, ESTATUS OXIDATIVO Y SÍNDROME METABÓLICO

¹C. Cruz-Teno, ¹Y. Jiménez-Gómez, ¹F. Fuentes, ¹A. Camargo, ¹P. Gómez, ¹P. Lora-Aguilar ²I. Túnez, ³H. Roche y ¹F. Pérez-Jiménez

¹Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España. ²Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, España. ³University College of Dublin, Ireland.

Introducción: El Síndrome Metabólico favorece el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo II. El estrés oxidativo parece estar implicado en la fisiopatología de la diabetes y enfermedades cardiovasculares relacionadas con el Síndrome Metabólico.

Objetivo: Analizar en pacientes con Síndrome Metabólico, el efecto a largo plazo de una dieta rica en grasa monoinsaturada sobre el estatus oxidativo, comparado con dietas ricas en grasa saturada, o hidratos de carbono (suplementada o no con ácidos grasos poliinsaturados n-3).

Metodología: 75 enfermos del estudio del LIPGENE fueron randomizados para recibir uno de los cuatro periodos de intervención dietética de 12 semanas de duración de los que consta el estudio: 1. Dieta rica en grasa saturada (38% energía); 2. Dieta rica en grasa monoinsaturada (38% energía); 3. Dieta pobre en grasa (28% energía) y rica en hidratos de carbono (HC); 4.

Dieta pobre en grasa (28% energía) y rica en HC, con 1 gr/d de poliinsaturados n-3. Al finalizar el periodo de intervención dietética y tras 12 horas de ayuno se realizaron extracciones sanguíneas y se determinaron los niveles en plasma de lipoperoxidos, proteínas carboniladas, H₂O₂, la capacidad antioxidante total del plasma, las concentraciones de glutatión reducido (GSH) y el cociente glutatión reducido/glutatión oxidado (GSSG). Por último, se determinaron las actividades plasmáticas de la glutatión peroxidasa (GPx) y la superóxido dismutasa (SOD).

Resultados: En los pacientes que tomaron la dieta rica en grasa monoinsaturada durante 12 semanas observamos que, tras 12 horas de ayuno, presentaron mayores niveles de GSH comparado con la dieta rica en grasa saturada ($p = 0,001$). Asimismo, hallamos menores niveles de proteínas carboniladas con la dieta rica en grasa monoinsaturada que con las demás dietas ($p < 0,05$).

Por último, al analizar la SOD obtuvimos una menor actividad de la enzima con el consumo de ácidos grasos monoinsaturados comparado con la ingesta de grasa saturada ($p = 0,012$).

En el resto de los parámetros analizados no hallamos diferencias significativas.

Conclusión: El consumo a largo plazo de una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados produce un efecto beneficioso sobre el estatus oxidativo en pacientes con Síndrome Metabólico.

EFEECTO DE ATORVASTATINA EN LA EXPRESIÓN GÉNICA DE ESTEAROIL-COA DESATURASA EN MACRÓFAGOS THP-1

¹P. Martín-Fuentes, ¹A. Luis García-Otín, ²L. Calvo, ³D. Gómez-Coronado, ¹F. Civeira y ¹A. Cenarro.

¹Laboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Zaragoza. ²Servicio de Bioquímica, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza. ³Servicio de Bioquímica-Investigación, Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción y Objetivo: Las estatinas, inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, reducen la concentración de colesterol-LDL disminuyendo la incidencia de eventos coronarios.

Sin embargo, los beneficios observados de las estatinas son mucho mayores de lo que cabría esperar debido a cambios en el perfil lipídico. Estudios previos de nuestro grupo de investigación han demostrado, utilizando biochips de expresión, que atorvastatina modifica el perfil de expresión génica de ciertas enzimas involucradas en el metabolismo de los ácidos grasos, principalmente estearoil-CoA desaturasa (SCD), en macrófagos incubados con LDL oxidada, sugiriendo que las estatinas podrían modificar la composición de ácidos grasos en los macrófagos. SCD es la enzima limitante en la síntesis de ácidos grasos monoinsaturados a partir de ácidos grasos saturados y su expresión es regulada por el factor de transcripción SREBP-1c. El objetivo de este estudio fue determinar si los inhibidores de la HMG-CoA reductasa pueden afectar a la composición de ácidos grasos en los macrófagos y si el perfil de expresión génica de SCD podría explicar este efecto.

Materiales y Métodos: Se determinó la composición de ácidos grasos mediante cromatografía de gases en macrófagos THP-1 tratados con atorvastatina y LDL nativa u oxidada, y se analizó la expresión génica de SCD y SREBP-1c mediante RT-PCR en tiempo real.

Resultados: Se encontró que atorvastatina redujo el porcentaje de ácido palmítico y oleico a expensas de sus ácidos grasos saturados en células THP-1, lo cual podría explicarse por la inhibición de la expresión génica de SREBP-1c y SCD. Además, el efecto de atorvastatina fue más pronunciado en macrófagos incubados con LDL.

Conclusión: Atorvastatina disminuye la composición de ácidos grasos monoinsaturados en macrófagos THP-1 mediante la inhibición de la expresión de SCD y de su factor de transcripción SREBP-1c.

EFEECTO DE LA ATORVASTATINA SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO E INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (ERC)

¹M. Goicoechea, ¹S. García de Vinuesa, ¹M. Miana, ²N. de las Heras, ²B. Martín-Fernández, ²V. Cachofeiro, ²V. Lahera y ¹J. Luño

¹Sº de Nefrología HGU Gregorio Marañón y ²Depto. de Fisiología Universidad Complutense. Madrid.

Los pacientes con ERC presentan un aumento del estrés oxidativo, que parece ser determinante para el alto riesgo cardiovascular observado en estos pacientes. Asimismo, el aumento del estrés oxidativo parece estar íntimamente relacionado con la inflamación crónica. Los objetivos de este estudio fueron: 1) analizar la prevalencia de los marcadores de estrés oxidativo y de inflamación en pacientes con ERC (estadios 3 y 4) en comparación con un grupo control de pacientes sin ERC; 2) evaluar el efecto del tratamiento con atorvastatina sobre parámetros de inflamación y de estrés oxidativo. Se estudió una población de 66 pacientes con ERC (filtrado glomerular, FG < 60 ml/min) en comparación con un grupo control de 16 pacientes sin ERC. De los 66 pacientes con ERC, 47 fueron tratados con atorvastatina (20 mg/día) durante 6 meses, y 19 pacientes no recibieron tratamiento con la estatina. Se determinó la capacidad antioxidante total del plasma (CAT), los hidroperóxidos lipídicos (LPO) y la LDL-oxidada (LDL-ox) como marcadores de estrés oxidativo, y como marcadores inflamatorios la IL-6, la IL-1b, el TNF α , la PCR y el fibrinógeno. Los pacientes con ERC presentaron un aumento de los marcadores de estrés oxidativo respecto al grupo control (LDL-ox: 103,0 \pm 26 vs 41,7 \pm 12,5 U/l, $p = 0,0001$ y LPO: 8,2 \pm 6,8 vs 4,8 \pm 2,6 μ mol/l; $p < 0,001$). Asimismo, los pacientes con ERC presentaron un valores de factores inflamatorios mas elevados que el grupo control: PCR (mediana 1,5 vs 4,8 mg/l; $p < 0,002$), TNF α (2,8 \pm 1,6 vs 6,4 \pm 2,7 pg/ml; $p < 0,0001$), IL-6 (3,1 \pm 2,5 vs 5,7 \pm 3,4 pg/ml; $p < 0,001$) y de IL-1b (1,3 \pm 0,5 vs 1,8 \pm 0,7 pg/ml; $p < 0,0001$). La CAT y el fibrinógeno fueron similares en ambos grupos. El tratamiento con atorvastatina en pacientes con ERC disminuyó significativamente los niveles de LDL-ox (116,7 \pm 25,4 vs 86,7 \pm 21,3 U/l; $p = 0,0001$), de LPO (9,53 \pm 13,8 vs 7,26 \pm 3,5 μ mol/l; $p = 0,004$), de PCR (mediana 4,1 vs 2,9 mg/l; $p < 0,015$), de TNF α (6,0 \pm 2,7 vs 4,7 \pm 2,4 pg/ml; $p < 0,046$), y de IL-1b (1,9 \pm 0,7 vs 1,2 \pm 0,7 pg/ml; $p < 0,001$). En conclusión, la ERC se asocia a aumentos del estrés oxidativo y de la inflamación. La disminución de los marcadores de oxidación e inflamación producida por el tratamiento con atorvastatina podría ser relevante en la disminución del riesgo cardiovascular en pacientes con ERC.

EFEECTO DE LA INGESTIÓN AGUDA DE DIETAS DE DISTINTA COMPOSICIÓN SOBRE LA ACTIVACIÓN Y EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN, CITOQUINAS Y RECEPTORES EN MONOCITOS Y LINFOCITOS

¹E. Torrecilla, ²M. González-Muñoz, ¹J.M. Lahoz y ¹J.M. Mostaza

¹Unidad de Arteriosclerosis. ²Departamento de Inmunología. Hospital Carlos III. Madrid

Antecedentes: Numerosos estudios han evaluado el efecto de la dieta sobre determinados aspectos bioquímicos y metabólicos relacionados con el riesgo cardiovascular, como la concentración de lípidos y lipoproteínas. Menos atención se ha prestado a su efecto sobre la activación y expresión de marcadores

de células del sistema inmune implicadas en el proceso aterogénico. La mayoría de los estudios que se centran en este punto han estudiado el efecto crónico de la dieta, no existiendo apenas estudios que valoren el efecto agudo de dietas de diversa composición.

Objetivos: Evaluar y comparar el efecto agudo de dietas de distinta composición (rica en carbohidratos (CH), grasa saturada (AGS) o monoinsaturada (AGM)) en la expresión de moléculas de adhesión (CD11a, CD49d, CD11b, CD62L y CD54), citoquinas (MCP-1, TNF- α e IL-1 β) y receptores (CD162 y CCR2) de monocitos y linfocitos circulantes.

Métodos: Participaron 20 sujetos, de ambos sexos, menores de 40 años y normolipémicos. Los participantes acudieron en ayunas 3 días, en 3 semanas consecutivas. Tras realizar una extracción basal, ingirieron de forma aleatoria una de las 3 dietas isocalóricas (782 calorías): rica en HC (84% HC, 5% grasas totales), AGS (64% de grasa total con 38% de saturada y 19% de monoinsaturada) o AGM (64% de grasa total con 8% de saturada y 46% de monoinsaturada). Durante 10 horas se les mantuvo en reposo, sin ingerir nada, a excepción de agua y se les extrajo cada 2 horas una nueva muestra de sangre. Con el plasma de las 6 extracciones se determinó la concentración de colesterol y triglicéridos por métodos enzimático colorimétricos. Con la sangre entera se realizó un marcaje con anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos frente a los distintos marcadores celulares. Mediante citometría de flujo se observó la intensidad de fluorescencia media con la que las células expresaban dichos marcadores. El análisis estadístico se realizó con una Anova de medidas repetidas.

Resultados: La edad media de los participantes fue de 32 años, 7 de ellos varones. Ninguna de las dietas produjo cambios apreciables en la expresión de moléculas de adhesión en los monocitos salvo un discreto aumento en la expresión de CD49d, CD54 y CD162 con los HC. Por el contrario, los cambios en linfocitos fueron más evidentes, fundamentalmente con la ingesta de una dieta rica en HC, con la que se produjo un aumento en la expresión de CD11a, CD49d, CD162 y CCR2, con ambas dietas grasas tan solo tuvo lugar una disminución en la expresión de CD62L y CD49d.

Conclusiones: La ingestión aguda de una dieta es suficiente para producir una activación celular moderada, mayor en el caso de linfocitos vs. monocitos, y con la dieta rica en HC vs. grasa. Ninguna dieta produjo modificaciones significativas en la expresión de citoquinas.

EFFECTO DE OLMESARTAN SOBRE LOS PARAMETROS DE OXIDACIÓN E INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (ERC)

¹M. Goicoechea, ¹S. García de Vinuesa, ²B. Martín-Fernández, ²M. Miana, ²N. de las Heras, ²V. Lahera, ²V. Cachofeiro, ¹J. Luño

¹S^o de Nefrología HGU Gregorio Marañón y ²Depto. de Fisiología Universidad Complutense. Madrid.

Los pacientes con ERC presentan un elevado riesgo cardiovascular. Además de los factores de riesgo clásicos, otros factores como el estrés oxidativo, la inflamación crónica y la elevación de las concentraciones de homocisteína se han propuesto como factores involucrados en la alta morbimortalidad cardiovascular en pacientes con ERC. Los objetivos del presente estudio fueron: 1) estudiar la prevalencia de los marcadores de oxidación e inflamación en un grupo de pacientes con ERC, en comparación con un grupo control de 25 personas sanas; 2) evaluar el efecto del tratamiento con Olmesartan (40 mg durante 16 semanas) sobre los marcado-

res citados. El estudio incluyó 52 pacientes con ERC (filtrado glomerular, FG 42 \pm 17 ml/min) no diabéticos que no habían sido tratados previamente con agentes bloqueantes del SRAA. Se determinaron la PCR y la IL-6 como marcadores de inflamación, así como la capacidad antioxidante total del plasma (CAT), los hidroperóxidos lipídicos (LPO) y la LDL-oxidada (LDL-ox), como marcadores de estrés oxidativo. Los marcadores de inflamación, oxidación (excepto CAT) y la homocisteína fueron significativamente mayores en los pacientes con ERC que en los sujetos sanos: PCR 4,45 (2,45-9) vs 1,5 (1-3,2) mg/l, p.0001; IL-6 4,8 (2,9-9,6) vs 2,39 (1,1-4,1) pg/ml, p = 0001; LDL-ox 103 \pm 26 vs 41,7 \pm 12,5 U/l, p = 0001; LPO 8,2 \pm 6,8 vs 4,8 \pm 2,6 μ M, p = .0001; Homocisteína 25 \pm 20,9 vs 12 \pm 6 μ M, p = .002 Se observó una correlación lineal entre LPO y PCR, pero no con el filtrado glomerular. El tratamiento con Olmesartan redujo los niveles de PCR [mediana 4,45 mg/l (2,45 to 9,00) a 3,55 mg/l (1,80 to 5,40); p < 0,05] y fibrinógeno (412 \pm 100 vs 370 \pm 105 mg/dl; p < 0,05). Sin embargo olmesartan no afectó a otros marcadores de inflamación, homocisteína o marcadores de oxidación. En conclusión, en estadios tempranos de la ERC se observa un incremento del estrés oxidativo, sin modificaciones de la capacidad antioxidante del plasma, que se asocia con algunos marcadores de inflamación y aumento de homocisteína. En estos pacientes con ERC, la angiotensina II parece estar más relacionada con el proceso inflamatorio que con el estrés oxidativo.

EFFECTO DEL AMLODIPINO SOBRE LOS MARCADORES INFLAMATORIOS EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLEMICOS

¹M. Miana, ²E. Ibeas, ²R. Martín, ¹N. de las Heras, ¹B. Martín-Fernández, ¹V. Lahera, ²M.L. Nieto y ¹V. Cachofeiro

¹Dpto. de Fisiología. Facultad de Medicina. UCM, Madrid.

²IBGM, CSIC, Valladolid

Estudios clínicos y experimentales han puesto de manifiesto los efectos beneficiosos de los calcioantagonistas sobre la progresión de las lesiones ateroscleróticas. Sin embargo, se desconoce el papel que estos fármacos pueden ejercer sobre los marcadores inflamatorios asociados a los procesos ateroscleróticos y su relación con el daño en la pared vascular.

Objetivo: Analizar el impacto del tratamiento crónico con amlodipino sobre marcadores inflamatorios relevantes en la patología cardiovascular en conejos hipercolesterolémicos, así como establecer su efecto sobre el desarrollo de la lesión aterosclerótica.

Métodos: Se utilizaron conejos New Zealand alimentados con una dieta rica en colesterol (1%), tratados o no con amlodipino (1 mg/kg/día) durante 10 semanas. Tras el tratamiento se evaluó: el perfil lipídico, la presión arterial directa, el grado de la lesión en la aorta, los niveles plasmáticos de la fosfolipasa A₂ soluble (sPLA₂) y la expresión vascular de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) α , β g.

Resultados: El tratamiento con amlodipino, no modificó ni la presión arterial ni el aumento de los niveles de triglicéridos, colesterol total o LDL-colesterol inducidos por la dieta, pero sí previno los cambios en los diversos marcadores inflamatorios (PPAR α , β ,g y sPLA₂) y redujo parcialmente el área de la lesión en los conejos dislipémicos.

Conclusiones: Los datos muestran que en conejos hipercolesterolémicos el amlodipino ejerce efectos beneficiosos al reducir tanto marcadores de inflamación como la lesión aterosclerótica. Por tanto, el amlodipino presenta efectos vasoprotectores independientes de su acción antihipertensiva.

EFFECTO DEL CONSUMO DE UNA ALIMENTACIÓN MEDITERRÁNEA SUPLEMENTADA EN COENZIMA Q10 SOBRE LOS NIVELES DE P53 EN RESPUESTA AL DAÑO EN EL ADN

¹F.M. Gutiérrez-Mariscal, ¹E.M. Yubero-Serrano, ¹C. Marín, ¹N. Delgado, ¹F. Martín, ¹J.A. Paniagua, ¹F. López-Segura, ²J.M. Villalba, ¹J. López-Miranda y ¹F. Pérez-Jiménez

¹Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ²Dpto. Biología Celular. Edificio Severo Ochoa. Universidad de Córdoba. Córdoba.

Antecedentes: El envejecimiento de la población es un fenómeno mundial que se relaciona con un incremento drástico en la morbimortalidad cardiovascular asociado a una disfunción endotelial inducida por un aumento del estrés oxidativo (HIPÓTESIS OXIDATIVA DEL ENVEJECIMIENTO). El coenzima Q₁₀ (CoQ) además de su función como transportador de electrones mitocondrial, en otras membranas muestra una función antioxidante, directamente contra la formación de lipoperóxidos o de forma indirecta a través del reciclado de otros antioxidantes. La fosfoproteína p53 actúa como factor de transcripción encargado de la estabilidad del ADN. Los niveles de esta proteína en la célula aumentan en respuesta al daño en el ADN producido por estrés oxidativo.

Objetivos: Estudiar el efecto de una alimentación mediterránea suplementada en CoQ sobre los niveles de p53 en respuesta al daño en el ADN producido por estrés oxidativo.

Métodos: 20 hombres y mujeres con edad superior a 65 años siguieron cuatro periodos de intervención dietética, de forma randomizada-cruzada de ocho semanas de duración: 1. Dieta mediterránea suplementada con CoQ (200 mg/día). 2. Dieta mediterránea no suplementada con CoQ (placebo). 3. Dieta rica en grasa saturada. 4. Dieta rica en grasa poliinsaturada. Se realizaron extracciones antes de la dieta (basal), y en los tiempos 0, 1, 2 y 4 h. Se determinaron niveles de p53 y p53 fosforilada en Ser20 (p53 activada para la unión a sus genes diana) tanto en citoplasma como en núcleo de células mononucleares mediante Western Blot.

Resultados: En el análisis de p53 en el citoplasma se observó un descenso significativo tras la ingesta de la dieta mediterránea suplementada en CoQ respecto a la dieta rica en grasa poliinsaturada ($p < 0,05$). Así mismo, también fueron significativas las disminuciones de p53 en núcleo y citoplasma y p(Ser20)-p53 nuclear en el postprandio tras el consumo de la dieta mediterránea suplementada en CoQ ($p < 0,05$).

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que el consumo de CoQ junto a una dieta mediterránea posee un efecto protector frente a los procesos de oxidación celular disminuyendo el daño en el ADN por estrés oxidativo.

EFFECTO DEL CONSUMO DE UNA ALIMENTACIÓN MEDITERRÁNEA SUPLEMENTADA EN COQ SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO CELULAR

¹E.M. Yubero-Serrano, ¹F.M. Gutiérrez-Mariscal, ¹E. Galán, ¹J. Criado, ¹Y. Jiménez-Gómez, ²M. Santos-González, ³I. Túnez, ²J.M. Villalba, ¹F. Pérez-Jiménez y ¹J. López-Miranda

¹Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ²Dpto. Biología Celular. Universidad de Córdoba. ³Dpto. Bioquímica. Facultad de Medicina. Córdoba.

Antecedentes: El envejecimiento de la población es un fenómeno mundial que se relaciona con un incremento drástico en la morbimortalidad cardiovascular asociado a una disfunción endotelial inducida por un aumento del estrés oxidativo

(HIPÓTESIS OXIDATIVA DEL ENVEJECIMIENTO). Actualmente existe una gran preocupación científica y social por la búsqueda de alternativas para conseguir un envejecimiento saludable. El coenzima Q₁₀ (CoQ) además de su función como transportador de electrones mitocondrial, en otras membranas muestra una función antioxidante, directamente contra la formación de lipoperóxidos o de forma indirecta a través del reciclado de otros antioxidantes.

Objetivos: Estudiar el efecto de una alimentación mediterránea suplementada en CoQ sobre el estrés oxidativo celular asociado con el envejecimiento.

Métodos: 20 hombres y mujeres con edad superior a 65 años siguieron cuatro periodos de intervención dietética, de forma randomizada-cruzada de ocho semanas de duración: 1. Dieta mediterránea suplementada con CoQ (200 mg/día). 2. Dieta mediterránea no suplementada con CoQ (placebo). 3. Dieta rica en grasa saturada. 4. Dieta rica en grasa poliinsaturada. Se realizaron extracciones antes de la dieta (basal), y en los tiempos 0, 1, 2 y 4 h. Se determinaron niveles plasmáticos de CoQ, vitamina E, vitamina C y b-caroteno, actividades enzimáticas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (Gpx) y niveles plasmáticos de 8-hidroxideoxiguanina (8-OHdG).

Resultados: Tras la intervención se obtuvo un mayor contenido plasmático en CoQ con la dieta mediterránea suplementada con CoQ en relación a las otras restantes. De la misma manera, los contenidos plasmáticos de los marcadores antioxidantes liposolubles, como las vitamina E y b-caroteno (provitamina A) e hidrosolubles, como el ácido ascórbico (vitamina C) fueron más elevados. Los niveles de 8-OHdG fueron superiores en las dietas ricas en grasa saturada y poliinsaturada cuando se compararon con la dieta mediterránea tanto suplementada como sin suplementar con CoQ. La actividad de las enzimas antioxidantes estudiadas CAT, SOD y Gpx fue inferior en la dieta mediterránea suplementada con CoQ ($p < 0,05$).

Conclusiones: Los resultados obtenidos sugieren que cuando el CoQ se administra junto a una dieta mediterránea podría aumentar la acción de los sistemas antioxidantes, disminuyendo la tasa de oxidación y así reducir los procesos de oxidación celular.

EFFECTO DEL CONSUMO MODERADO DE DIFERENTES BEBIDAS ALCOHÓLICAS EN MARCADORES PLASMÁTICOS DE INFLAMACIÓN Y OXIDACIÓN EN JÓVENES VOLUNTARIOS SANOS

¹V. Cachafeiro, ²J. Millán, ²A. Torres, ²C. Recarte, ¹V. Lahera, ³J. Egido y ²LA. Alvarez-Sala

²U. de lípidos y riesgo cardiovascular. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. ¹Dpto. Fisiología. Fac. Medicina. Univ Complutense. ³Fundación Jiménez Díaz. Univ. Autónoma Madrid.

Antecedentes: Muchos estudios epidemiológicos han demostrado el beneficio de moderadas cantidades de bebidas alcohólicas en la morbi-mortalidad cardiovascular. Parte de este efecto se ha atribuido al efecto antioxidante de determinadas bebidas. Algunas modifican la expresión de NFK-B, mediador intracelular de inflamación implicado en aterogénesis. Sin embargo, se discute si todas tienen los mismos efectos beneficiosos.

Objetivo: Comparar la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de diferentes bebidas alcohólicas.

Material y métodos: 16 jóvenes (8 mujeres) de 22 a 29 años recibieron una dieta estándar controlada de ~1.500 Kcal/m²

con 44% como grasa durante 4 días, que se repitió 5 veces. En cada periodo recibieron una de las siguientes bebidas alcohólicas: vino tinto, ron añejo, brandy o vodka (16 g/m² diarios de alcohol), y en una 5ª ocasión agua azucarada para lograr una dieta isocalórica (grupo control). Se obtuvieron muestras de sangre en ayunas los días 1º y 5º. Se determinaron niveles plasmáticos del status oxidativo: capacidad antioxidante total (CAT), de peroxidación lipídica (LPO) y marcadores de inflamación: PCR ultrasensible, interleukina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral α (TNF- α).

Resultados: La ingesta de la dieta hipercalórica se asoció con un aumento de niveles plasmáticos de LPO ($p < 0,05$) y una reducción de la capacidad antioxidante total plasmática -CAT- ($p < 0,03$). La ingesta concomitante de vino, ron y brandy redujo los niveles de LPO, más marcada en aquellos individuos que tomaron vino (27% vs 9 % y 10% ron y brandy, respectivamente). No se observó ningún cambio en los sujetos que tomaron vodka. Sólo la ingesta de vino normalizó los niveles de CAT. En relación con los marcadores de inflamación, la ingesta de una dieta con alto contenido en grasa se asoció con un aumento en los niveles séricos de PCR-hs ($0,8 \pm 0,2$ mg/dl vs $1,3 \pm 0,3$, $p < 0,01$) y una tendencia al aumento de los niveles de IL-6 y TNF α . La ingesta de vino, ron y brandy previno este incremento siendo el vino mucho más eficaz en prevenir estos cambios que el ron y el brandy. No se observaron cambios con respecto al grupo control en los niveles plasmáticos ni de IL-6 ni de TNF α de los sujetos que tomaron vodka. Sin embargo, el incremento de la PCR-hs observado con la dieta fue reducido de manera similar por la ingesta de vino, ron, brandy o vodka.

Conclusiones: Los datos indican que en sujetos sanos, la ingesta moderada de algunas bebidas alcohólicas, especialmente de vino y en menor medida de ron y brandy, previene el aumento del estrés oxidativo y reducen la expresión de marcadores de inflamación inducidos por la ingesta de una dieta con alto contenido en grasas. Por tanto, estos datos sugieren que no todas las bebidas alcohólicas tienen los mismos efectos beneficiosos.

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON CPAP SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA RESISTENCIA A INSULINA EN PACIENTES CON SÍNDROME DE APNEA DEL SUEÑO

M. Murri Pierri, J. Alcázar Ramírez, F. Cardona Díaz y F.J. Tinahones Madueño

Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria.

Antecedentes: Sabemos que los pacientes con Síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS) presentan un incremento en el estrés oxidativo y que el SAHS se asocia un incremento de prevalencia de enfermedades cardiovasculares y metabólicas, entre ellas la diabetes tipo II. El CPAP es un tratamiento que reduce de forma importante el estrés oxidativo de estos pacientes, por tanto, es este un buen modelo para comprobar el papel real que juega el estrés oxidativo en la génesis de la resistencia a insulina.

Metodología: 73 pacientes diagnosticados con SAHS, tanto basal como tras un mes de tratamiento con CPAP, se les recogieron los datos epidemiológicos (sexo, edad, antecedentes médicos, fármacos), datos clínicos (peso, talla, perímetro de la cintura, perímetro cervical, índice de masa corporal), y las variables bioquímicas: glucemia, creatinina, ácido úrico, colesterol, c-HDL, c. LDL, triglicéridos, GOT, GPT, GGT, Hb1Ac, Cte.

albúmina/creatinina, Cte. Ácido úrico/creatinina en sangre y orina.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas antes y después del tratamiento en las variables antropométricas y bioquímicas salvo los niveles de HDL que descendieron tras el tratamiento. En cuanto a los biomarcadores de estrés oxidativo se observó un aumento en las enzimas antioxidantes (glutatión reductasa y transferasa) tras el tratamiento, el resto de variables medidas no presentaron diferencias significativas.

Conclusión: El tratamiento con CPAP en pacientes con SAHS produce una mejora en los biomarcadores de estrés oxidativo.

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON PRAVASTATINA SOBRE LA EXPRESIÓN DE CD11A EN LINFOCITOS DE PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA

¹A.I. Rodríguez-Mahillo, ^{2,3}E. Torrecilla, ³C. Lahoz, ²M. González-Muñoz, ³F. García-Iglesias, ³F. Laguna, ³E. Estirado, ³J. Ruiz-Rivas y ³J.M. Mostaza

¹Unidad de Investigación. ²Departamento de Inmunología. ³Unidad de Arteriosclerosis. Hospital Carlos III. Madrid.

Antecedentes: Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) desempeñan un papel fundamental en las fases tempranas del proceso aterogénico a través de la expresión de moléculas de adhesión y receptores celulares que facilitan su paso al espacio subintimal. Durante el proceso inflamatorio destaca el papel pleiotrópico de la integrina CD11a cuya expresión por las CMSP favorece la adhesión laxa establecida durante el rolling así como la unión más firme de los leucocitos al endotelio, primer y segundo paso respectivamente del tráfico leucocitario hacia el foco inflamatorio. Diversos estudios demuestran que ciertos factores de riesgo para el desarrollo de arteriosclerosis, como la hipertensión, la diabetes, la dislipemia o la obesidad, están asociados con una mayor expresión de moléculas de adhesión por las CMSP. El efecto de diversas estatinas sobre la expresión de moléculas de adhesión en distintas poblaciones leucocitarias ha mostrado resultados discordantes.

Objetivo: Evaluar el efecto del tratamiento pravastatina sobre la expresión de CD11a en linfocitos de pacientes con hipercolesterolemia.

Métodos: Estudio aleatorizado y cruzado en 13 pacientes con hipercolesterolemia definida de forma arbitraria por un colesterol-LDL > 190mg/dl. La indicación del tratamiento hipolipemiante se hizo de acuerdo con los criterios de la NCEP. Los pacientes fueron aleatorizados a tomar 40 mg de pravastatina o placebo en una única toma nocturna durante 6 semanas, recibiendo posteriormente el tratamiento contrario durante otras 6 semanas. Se obtuvieron muestras de sangre total después de cada uno de los dos periodos. Se realizó un estudio por citometría de flujo de la población linfocitaria marcada con CD11a FITC/CD14PerCP. Los linfocitos se seleccionaron por sus características de FSC/SSC y su ausencia de expresión de CD14. Se comparó el porcentaje de linfocitos que expresaban CD11a con fenotipos CD11adim (baja expresión de CD11a) y CD11ahigh (alta expresión de CD11a) en los pacientes tratados con pravastatina o placebo.

Resultados: Los pacientes (edad media 49 años, 39% varones) tuvieron un colesterol total de 282 mg/dl y un colesterol-LDL de 205 mg/dl durante la fase de placebo y de 226 mg/dl y 144 mg/dl respectivamente tomando pravastatina ($p < 0,05$ para ambos). No se observaron diferencias significativas ni en el porcentaje medio de linfocitos que expresaban CD11a ni en la intensidad media de fluorescencia en ninguna de las dos

subpoblaciones linfocitarias entre los pacientes tomando pravastatina o placebo.

Conclusiones: Aunque la pravastatina disminuye los niveles totales de colesterol en pacientes hipercolesterolémicos, no modifica la activación de los linfocitos medida a través de la expresión de CD11a.

EL BLOQUEO DE LA TRANSLOCACIÓN NUCLEAR DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN REDUCE EL TAMAÑO DE LAS LESIONES Y LA INFLAMACIÓN EN LA ATROSCLEROSIS EXPERIMENTAL

¹B. Mallavia, ¹G. Ortiz-Muñoz, ¹V. López-Parra, ¹P. Fernández-Vizarra, ²O. López-Franco, ¹J. Egido y ¹C. Gómez-Guerrero

¹Laboratorio de Patología Renal y Vascular. Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma. ²Departamento de Bioquímica, Universidad Complutense. Madrid.

La expresión de genes implicados en inflamación está estrictamente regulada por los denominados factores de transcripción sensibles a estrés (SRTF), entre ellos NF- κ B, NF-AT, AP-1 y STAT. En respuesta a estímulos proinflamatorios, los SRTF activados se translocan al núcleo mediante un sistema de proteínas adaptadoras que se unen a su secuencia de localización nuclear. Puesto que la aterosclerosis es considerada un proceso de inflamación crónica, en este trabajo abordamos nuevas estrategias terapéuticas para esta patología centradas en la inhibición de los SRTF. Para ello, estudiamos los efectos *in vitro* e *in vivo* del péptido AAVALLPAVLLALLAP YVQRKROQLMP, tanto en su forma lineal como cíclica. Este péptido contiene una secuencia de localización nuclear y es capaz de internalizarse en las células y bloquear la translocación al núcleo de los SRTF activados en condiciones inflamatorias. En cultivos de células de músculo liso vascular (CMLV) estimuladas con lipopolisacárido bacteriano (LPS, 1mg/ml), la preincubación con el péptido redujo la activación de NF- κ B, NF-AT y STAT3, medida por ensayos de unión al DNA. El péptido también previno la translocación al núcleo de las subunidades p65 de NF- κ B y cFos de AP-1, determinada por microscopía de fluorescencia y Western blot. En estudios funcionales de gen reportero, la actividad luciferasa NF- κ B-dependiente inducida por LPS se redujo un 63±8% en presencia del péptido inhibidor. Por último, el tratamiento de las CMLV con el péptido previno la expresión de diversos genes inflamatorios, como TNF α , MCP-1, RANTES e ICAM-1 (% reducción vs LPS a 3 horas: 85±5, 94±3, 91±11 y 96±2, respectivamente). Como modelo experimental de aterosclerosis utilizamos ratones deficientes en apolipoproteína (machos, 8 semanas de edad, n = 10) alimentados con dieta hiperlipídica durante 4 semanas y repartidos en dos grupos: I) controles no tratados, II) tratados con péptido (0,4 mg, i.p cada 2 días, 4 semanas). La administración del péptido redujo significativamente el tamaño y la extensión de la lesión aórtica (tinción oil red/hematoxilina) (% inhibición vs no tratados: 47±8, p = 0,0138), sin alterar los niveles lipídicos en suero. En las aortas de los animales tratados observamos también un descenso en el contenido de macrófagos en la lesión (% reducción tinción Moma2: 27±11) y en la expresión de mRNA de TNF α y MCP-1 (% inhibición: 46±27 y 41±14). Estos resultados confirman el papel clave de los SRTF en los procesos inflamatorios durante la aterosclerosis y sugieren que el bloqueo de la importación al núcleo de estos factores de transcripción mediante péptidos inhibidores podría ser un interesante abordaje terapéutico en el daño vascular.

EL GENOTIPO DE QUITOTRIOSIDASA SE ASOCIA CON EL TIPO DE RESPUESTA INFLAMATORIA DE MACRÓFAGOS FRENTE A LDL OXIDADA

P. Martín-Fuentes, F. Civeira, M. Solanas-Barca, E. Jarauta, A.L. García-Otín, A. Cenarro.

Laboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Zaragoza.

Introducción y Objetivo: La enzima quitotriosidasa es la principal proteína secretada por los macrófagos activados y su actividad se ha relacionado con el proceso ateroscleroso. El gen de quitotriosidasa contiene una duplicación de 24 pb en el exón 10 que genera un alelo nulo. La hipótesis de este trabajo fue que el genotipo de la enzima quitotriosidasa, al ser ésta un marcador de activación en el macrófago, podría estar involucrado en la respuesta inmune frente a LDL oxidada.

Materiales y Métodos: Se determinó el genotipo de la enzima quitotriosidasa mediante PCR en 26 sujetos, 16 hombres y 10 mujeres, entre 25 y 61 años. A partir de 40 mL de sangre se aislaron sus monocitos y se diferenciaron a macrófagos. En el día 9 se incubaron con 50 μ g/mL de LDL oxidada durante 1, 3, 6 y 18 h. Se aisló el RNA total y se sintetizó el cDNA. Mediante RT-PCR en tiempo real se analizó la expresión génica de: CD36, SR-A, LOX-1, PPAR γ , IL-8, IL-1 β , CXCL3, Triptasa, NF- κ BIA y TNF- α . Se determinó mediante ELISA la concentración de IL-8 en el sobrenadante de los cultivos de macrófagos tras 18 h de incubación con LDL oxidada.

Resultados: Los macrófagos de los sujetos no portadores del alelo nulo de quitotriosidasa incubados con LDL oxidada sobreexpresaron los genes CD36 [0,96 (0,72-1,37) vs 0,66 (0,47-0,83)], IL-1 β [5,05 (3,51-9,99) vs 3,03 (1,98-4,45)] y TNF- α [0,75 (0,23-1,11) vs 0,13 (0,05-0,27)] y produjeron mayor cantidad de IL-8 [357 (198-517) vs 104 (93,5-184) pg/mL] que los macrófagos de sujetos portadores del alelo nulo.

Conclusión: El genotipo de quitotriosidasa podría condicionar la respuesta inflamatoria, pudiendo explicar, al menos en parte, la variabilidad interindividual observada en respuesta a LDL oxidada.

EL TRATAMIENTO COMBINADO DE ATORVASTATINA CON AMLODIPINO DISMINUYE LA INFLAMACIÓN EN SANGRE Y PLACA DE PACIENTES HIPERTENSOS CON ATROSCLEROSIS CAROTÍDEA

¹B. Muñoz-García, ¹J.L. Martín-Ventura, ¹L.M. Blanco-Colio, ²A. Martín-Conejero, ³M. Vega, ²J. Serrano, ²L. Ortega

¹J. Egido

¹Laboratorio de Patología Vascular. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma. ²Hospital Clínico de San Carlos, Universidad Complutense. Madrid. ³Hospital de Galdakao. Vizcaya.

Introducción: Diferentes estudios clínicos recientes parecen indicar que el tratamiento de pacientes hipertensos con una combinación de antihipertensivos e hipolipemiantes lleva a una mayor reducción en la incidencia de eventos cardiovasculares. Sin embargo, los mecanismos de estos efectos protectores no están completamente aclarados.

Objetivo: Investigar el efecto *in vivo* de la combinación de amlodipino con atorvastatina sobre diferentes parámetros inflamatorios en pacientes con aterosclerosis carotídea.

Metodos y resultados: Pacientes hipertensos con estenosis carotídea >70 %, se distribuyeron aleatoriamente en el momento de la decisión quirúrgica a recibir atorvastatina 20 mg/día más amlodipino 20 mg/día (Atv+Aml, n = 14) o únicamente

te atorvastina 20 mg/día (Atv, n = 12) durante un mes antes de la cirugía. Tras el tratamiento, todos los sujetos presentaron una disminución en los niveles de colesterol total y colesterol-LDL, así como en la tensión arterial, sin observarse variaciones significativas en ninguno de estos parámetros entre ambos grupos de tratamiento. En células mononucleares circulantes, Atv+Aml mostró una reducción en la activación del factor nuclear -κB respecto a Atv (0,73vs1,34 veces vs día 0), así como en la expresión de MCP-1 (0,71vs 1,16 veces vs día 0) y de COX-2 (0,79vs1,16 veces vs día 0). Ambos grupos presentaron una disminución en los niveles plasmáticos de MCP-1, llegando a la significación estadística sólo el grupo Atv+Aml (146±43 vs 125±62, p = 0,1; 137±39 vs 111±38, p = 0,01). Además, las placas ateroscleróticas de los sujetos tratados con Atv+Aml presentaron un menor número de macrófagos respecto a los pacientes tratados únicamente con Atv (18 ± 9 vs 23 ± 11 %tinción positiva/mm², p < 0,05). En cambio, no hubo diferencias significativas en el % de células de músculo liso vascular.

Conclusiones: El tratamiento combinado con atorvastatina y amlodipino en pacientes hipertensos con lesiones ateroscleróticas carotídeas reduce significativamente la actividad inflamatoria sanguínea y de la placa respecto al tratamiento con atorvastatina, lo que sugiere que el efecto estabilizador de las estatinas podría estar potenciado por la co-administración de amlodipino.

ESTRÉS OXIDATIVO E INSULINORRESISTENCIA EN LA HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA

¹S. Martínez-Hervás, ¹J. Ferri, ¹JT. Real, ²FJ. Chaves, ¹E. Benito, ²G. Sáez, ¹R. Carmena y ¹JF. Ascaso

¹Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ²Fundación para la Investigación. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ³Departamento de Bioquímica y Biología molecular. Universidad de Valencia.

Introducción: El estrés oxidativo (EO) se asocia con los mecanismos de la arteriosclerosis. La hiperlipemia familiar combinada (HFC) es un modelo humano de dislipemia primaria y arteriosclerosis, frecuentemente asociada a la presencia de insulinorresistencia (IR). Sin embargo, existen pocos datos de su posible relación con el EO.

Objetivo: Evaluar el estado oxidativo mediante la medición de diferentes marcadores en sujetos con HFC, y establecer su posible relación con los parámetros antropométricos y con la IR.

Materiales y métodos: Estudio transversal en el que se han incluido a 40 sujetos con HFC (20 con RI (HOMA > 3,2) y 20 sin IR (HOMA < 3,2)), y 20 voluntarios sanos, todos ellos no diabéticos, normotensos y no fumadores.

Se determinó mediante metodología estándar, en los tres grupos y en condiciones basales: perfil lipídico, niveles plasmáticos de glucosa e insulina, HOMA, y como indicadores representativos de estrés oxidativo: glutatión reducido (GSH), glutatión oxidado (GSSG) y el cociente GSSG/GSH.

Resultados: Los sujetos con HFC mostraron un incremento del estado de estrés oxidativo comparado con el grupo control. Cuando evaluamos el efecto de la IR, encontramos diferencias significativas entre los distintos grupos, de modo que existe un incremento de los niveles de GSSG y el cociente GSSG/GSH en los sujetos con HFC e IR, que indican mayores niveles de estrés oxidativo en dichos pacientes. En los estudios de correlación, el cociente GSSG/GSH se relacionó de forma independiente con la presencia de IR con una razón de probabilidad de 7,4.

Conclusiones: La HFC se relaciona con el EO, especialmente en presencia de IR.

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS FENOLES DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN SOBRE LA OXIDACIÓN DE LAS LDL INDUCIDA POR COBRE

¹C. González, ¹J. Girona, ²A. Soler, ¹M. Heras, ²M.P. Romero, ³M.I. Covas, ²M.J. Motilva, ¹L. Masana y ¹R. Solà

¹Unitat de Recerca en Lípids i Arteriosclerosi (CIBERDEM). Hospital Universitari Sant Joan de Reus, IISPV. Universitat Rovira i Virgili. Reus. ²Food Technology Department, University of Lleida, Lleida. ³Unitat d'Epidemiologia en Lípids i Cardiovascular, Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM - Hospital del Mar).

Introducción: El aceite de oliva virgen (AOV) protege frente a enfermedades cardiovasculares debido, en parte, a las propiedades antioxidantes sobre las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Aunque se conoce la actividad antioxidante de algunos de los fenoles del AOV, quedan otros pendientes de estudio.

Objetivo: Evaluar la resistencia a la oxidación de la LDL producida por los ácidos fenólicos, los flavonoides, los secoiridoides y los lignanos del AOV y la posible cooperación antioxidante entre ellos.

Métodos: Se han aislado los compuestos fenólicos del AOV por HPLC semipreparativa.

La resistencia a la oxidación se analizó mediante la formación de dienos conjugados de LDL, medida como la lag phase (inicio de la oxidación de las LDL en minutos). Se estudiaron 19 compuestos fenólicos de forma individual y las mezclas entre los que demostraron una lag phase más prolongada.

Resultados: La mayor resistencia a la oxidación se detectó en los compuestos fenólicos que presentaban una estructura 3, 4-dihidroxil ó 3, 4, 5-dihidroxil ligadas a un anillo aromático. Cuatro compuestos fenólicos cumplían dicha característica y mostraron una capacidad antioxidante similar a la del hidroxitirosol: luteolina, oleuropeína, rutina y la forma dialdehídica del ácido elenólico unida al hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA).

La comparación de la actividad antioxidante de las mezclas, en relación con los compuestos de forma individual, mostraba que la lag phase se duplicaba o triplicaba en presencia de las mezclas de cuatro y cinco compuestos, respectivamente (P < 0,05).

Conclusión: La cooperación antioxidante entre 5 compuestos fenólicos sobre la LDL incrementa el conocimiento de los efectos protectores antioxidantes del AOV.

EXPRESIÓN Y ACTIVACIÓN DE RECEPTORES DE ADIPONECTINA EN CULTIVOS DE CÉLULAS VASCULARES DE MÚSCULO LISO Y MONOCITOS

¹V. López-Parra, ¹B. Mallavia, ²C. Pastor, ¹G. Ortiz-Muñoz, ¹P. Fernández-Vizarrá, ²O. López-Franco, ¹J. Egido y ¹C. Gómez-Guerrero

¹Laboratorio de Patología Renal y Vascular. Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma. ²Departamento de Bioquímica, Universidad Complutense. Madrid.

El tejido adiposo participa de forma importante en la inflamación sistémica de diversas patologías, a través de la liberación de las adipocinas, entre ellas adiponectina. Estudios recientes sugieren que adiponectina podría ser un buen marcador del pronóstico en diabetes, hipertensión y arteriosclerosis, aunque los mecanismos de acción de esta proteína en las células del vaso no se conocen en profundidad. Nosotros hemos analizado la expresión de los dos principales receptores de adiponectina (AdipoR1 y AdipoR2) en cultivos de células vasculares de músculo liso (CMLV) y monocito/macrófagos (línea THP-1). En condiciones basales, ambos tipos celulares expresaron mRNA de AdipoR1 y AdipoR2, aunque en proporciones diferentes: R1 > R2 en CMLV y R2 > R1 en THP-1. Analizamos también las variaciones en la expresión de AdipoR1 y

AdipoR2 en diferentes condiciones de estimulación. En células THP-1, la incubación con lipopolisacárido bacteriano (LPS) o una combinación de citoquinas (IL-6 e IFN γ) indujo un aumento en la expresión de mRNA de AdipoR1, y en menor medida de AdipoR2, alcanzando el máximo entre 1-3 horas (incremento vs basal: AdipoR1, 1,7 y 1,4; AdipoR2, 1,4 y 1,2), mientras que la síntesis proteica mostró picos a partir de 8 horas. La estimulación con LPS y citoquinas también incrementó la expresión proteica de ambos receptores en CMLV, con valores máximos para LPS a 8 horas (incremento vs basal: AdipoR1, 1,9 y AdipoR2, 2,0) y para citoquinas a 48 horas (incremento vs basal: AdipoR1, 1,8 y AdipoR2, 1,4). Por último, observamos una expresión tiempo-dependiente en presencia de oleiletanolamida y ciglitazona, agonistas de PPAR α y PPAR γ (incrementos vs basal a 3 horas en THP-1: AdipoR1, 1,8 y AdipoR2, 1,5). A continuación analizamos los efectos directos de adiponectina sobre las células en cultivo. En monocitos THP-1, la incubación con adiponectina en su forma globular (5-20 μ g/ml) indujo un incremento dosis y tiempo-dependiente de la expresión génica de IL-6, TNF α y MCP-1 (5,2, 2,6 y 3,3 vs basal a 4 horas, respectivamente). Nuestro estudio muestra la presencia y modulación de receptores de adiponectina en CMLV y monocitos, y que adiponectina es capaz de activar la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias y quimioquinas en las células. Esto sugiere que adiponectina, además de su efecto anti-inflamatorio e inmunomodulador, puede presentar propiedades pro-inflamatorias. Los efectos de esta adipoquina en el proceso inflamatorio son complejos y su papel exacto en determinadas enfermedades inflamatorias debe ser estudiado en profundidad.

LA DEFICIENCIA EN EL RECEPTOR FCÁREDUCE LA INFLAMACIÓN CEREBRAL ASOCIADA A LA ARTERIOSCLEROSIS EN RATONES APOE^{-/-} ENVEJECIDOS

¹V. López-Parra, ¹B. Mallavia, ²C. Pastor, ¹G. Ortiz-Muñoz, ¹P. Fernández-Vizarrá, ²O. López-Franco, ¹J. Egido y ¹C. Gómez-Guerrero

¹Laboratorio de Patología Renal y Vascular, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma. ²Departamento de Bioquímica, Universidad Complutense. Madrid.

Numerosas evidencias indican que la respuesta inflamatoria en el sistema nervioso central (SNC) está implicada en enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (AD) o la enfermedad de Parkinson. Además, se ha descrito la implicación de varias citoquinas, fundamentalmente TNF α , IFN-g, IL-1 β e IL-6, en la evolución de la patología amiloide, el marcador principal de AD. Por otra parte, la reducción de la inflamación disminuye significativamente la patología amiloide en un modelo de AD. Recientemente, se ha identificado la arteriosclerosis como un factor de riesgo para el desarrollo de AD. A su vez, varios estudios han descrito la presencia de inflamación cerebral en el SNC en la arteriosclerosis. Los receptores Fc de las inmunoglobulinas G (FcGR) tienen un papel bien definido en la inflamación inducida por anticuerpos, regulando la activación o inhibición del sistema inmune, y en el mantenimiento de la tolerancia periférica. Sin embargo, se desconoce si juegan un papel en la modulación de la respuesta inflamatoria cerebral asociada a la arteriosclerosis. Para evaluar esta hipótesis, estudiamos ratones doble knockout (DKO), generados mediante el cruce de ratones deficientes en apolipoproteína E (apoE^{-/-}) y ratones deficientes en la cadena g de los FcGR (g^{-/-}). En estos ratones DKO los receptores activadores FcGR1 y FcGR3 no son funcionales. Se realizó un estudio comparativo en ratones macho de 12 meses de edad con fenotipo salvaje, apoE^{-/-} y DKO. Analizamos en es-

tos animales la expresión de mRNA de citoquinas pro-inflamatorias en las dos áreas cerebrales más afectadas en el envejecimiento cerebral y en AD. Mediante PCR a tiempo real, observamos que la expresión de TNF α , IFN-g y MCP-1, se incrementó en el hipocampo y la corteza cerebral en ratones apoE^{-/-} con respecto a los ratones control (incrementos en el hipocampo: 2,0, 1,5 y 4,4, respectivamente). Los ratones DKO mostraron una disminución en la expresión de TNF α , IFN-g y MCP-1 con respecto a los ratones apoE^{-/-} (% de inhibición en el hipocampo: 66 \pm 1, 45 \pm 1 y 74 \pm 1, respectivamente). Sin embargo, no se observaron apenas cambios en los niveles de expresión de IL-6 entre los tres grupos. Concluimos que la deficiencia en FcGR limita el desarrollo y la progresión de la inflamación cerebral asociada a la arteriosclerosis. Por tanto, la inhibición de los FcGR activadores podría ser de interés en la disminución de la gravedad, la evolución o el riesgo de padecer enfermedades neurodegenerativas, en las que la neuroinflamación es un factor importante.

LA FAMILIA DE PROTEÍNAS SOCS MODULA LA RESPUESTA INFLAMATORIA DE LAS CÉLULAS VASCULARES EN LA ATROSCLEROSIS EXPERIMENTAL

¹G. Ortiz-Muñoz^a, ¹J. Luis Martín-Ventura, ¹P. Hernández-Vargas, ¹B. Mallavia, ¹V. López-Parra, ²O. López-Franco, ¹B. Muñoz-García, ¹P. Fernández-Vizarrá, ³L. Ortega, ¹J. Egido y ¹C. Gómez-Guerrero

¹Laboratorio de Patología Renal y Vascular, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma. ²Departamento de Bioquímica, Universidad Complutense. ³Departamento de Patología, Hospital Clínico. Madrid.

Recientes estudios confirman el papel de la vía JAK-STAT en el control de las respuestas inflamatorias, identificando a la familia de proteínas SOCS (Suppressors of Cytokine Signaling) como reguladores negativos de esta ruta. En este trabajo estudiamos el papel de SOCS en la enfermedad vascular, analizando los efectos de su expresión o inhibición en las respuestas celulares dependientes de STAT. En aortas procedentes de ratones deficientes en apolipoproteína E (ApoE^{-/-}) alimentados con dieta hiperlipídica observamos un aumento en la expresión proteica de SOCS1 y SOCS3, tanto en la zona de la íntima como en la media, comparado con los controles de fenotipo salvaje. Estos resultados se confirmaron mediante PCR a tiempo real (incremento vs control: SOCS1, 3,5 \pm 0,3; SOCS3, 7,0 \pm 1,9). Asimismo, en placas ateroscleróticas de carótidas humanas detectamos expresión proteica de SOCS en la región inflamatoria del hombro, en contraste con la menor expresión en la cápsula fibrótica. In vitro, la estimulación de células de músculo liso vascular (CMLV) y monocitos con citoquinas (IL-6 e IFN γ) indujo fosforilación de STAT1 (máximo a 30min) y actividad transcripcional de STAT1, ¹/₂ y 3 (3,1 \pm 1,3, 3,6 \pm 0,7 y 3,0 \pm 0,3 vs basal), junto con un incremento en la expresión de mRNA de SOCS3 y SOCS1 (máximos a 1 y 4 horas: 3,3 \pm 0,6 y 4,0 \pm 0,7 vs basal, respectivamente). La expresión proteica de SOCS3 precedió a la de SOCS1 en ambos tipos celulares. Además, la transfección con plásmidos de expresión de SOCS1 y SOCS3 inhibió la activación de STAT y la expresión de MCP-1 (% inhibición: 51 \pm 6 y 58 \pm 3) e ICAM-1 (% inhibición: 53 \pm 3 y 39 \pm 8) y la proliferación celular (% inhibición: 70 \pm 10 y 66 \pm 9) inducida por citoquinas. Por otro lado, la incubación con oligonucleótidos (ODN) antisentido de SOCS3 redujo de forma dosis-dependiente la expresión de SOCS3 en monocitos y CMLV, aumentando las respuestas celulares a citoquinas, como activación de STAT (% incremento: 200 \pm 15 y 168 \pm 15) y

proliferación (% incremento: 215 ± 23 y 220 ± 19). In vivo, la transfección con ODN antisentido en ratones apoE^{-/-} inhibió la expresión de SOCS3 en la lesión aterosclerótica y aumentó significativamente el tamaño de la lesión, el contenido de macrófagos y la expresión de la quimiocina RANTES en comparación con los controles (vehículo y ODN sentido; % vs control: 159 ± 26 , 160 ± 34 y 305 ± 76). En conclusión, las proteínas SOCS son importantes reguladores de las respuestas celulares durante el daño vascular. La activación de esta vía endógena anti-inflamatoria podría representar un novedoso abordaje terapéutico en la aterosclerosis.

LA HIPOXIA AUMENTA EL DAÑO MITOCONDRIAL ENDOTELIAL TRAS LA ACTIVACIÓN DEL ENDOTELIO: TERAPIA CON ANTIOXIDANTES MITOCONDRIALES

M. Rocha, R. García-Bou, C. Bañuls, J.V. Esplugues, A. Hernandez-Mijares y Víctor VM.

Servicio Endocrinología. Hospital Universitario Dr Peset. Valencia.

Introducción y objetivos: El efecto inhibitorio del óxido nítrico (NO) sobre la respiración mitocondrial contribuye a los mecanismos patofisiológicos que tienen lugar en el fallo orgánico múltiple que se produce durante el shock séptico lo que conlleva a una situación clínica en la que la hipoxia tisular coexiste frecuentemente.

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta temporal a 0, 2, 6, 12 y 24 h en la inhibición de la respiración mitocondrial inducida por la activación del endotelio con la hipoxia concurrente.

Metodología: Las células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVECs) se activaron con TNF α e IFN γ durante 24-h, e incubadas a 21% o 1,5% de oxígeno (O₂) (normoxia e hipoxia respectivamente). Se evaluó la respiración mitocondrial, la medida de la actividad de complejo I, la producción de peroxinitrito, la S-nitrosilación, el contenido de antioxidantes y la nitración mediante medidas con el electrodo tipo Clark, sondas fluorescentes y western blot.

Resultados: El consumo de O₂, la actividad del complejo I y los niveles antioxidantes disminuyeron progresivamente en el tiempo tras la activación del endotelio. Este hecho fue prevenido por el inhibidor de la síntesis de NO, N-nitro L arginina. La presencia de antioxidantes mitocondriales como glutathion ester y mitoquinona, revirtieron los efectos en los tiempos iniciales de incubación. La inhibición del complejo I fue más persistente en el tiempo, coincidiendo con un incremento en la nitración de proteínas. La hipoxia aceleró dicho proceso, a pesar de la reducción de los niveles de NO presentes.

Conclusión: Nuestros resultados sugieren que la hipoxia amplifica la inhibición de la respiración mitocondrial generada durante los procesos inflamatorios tales como el shock y muestra a los antioxidantes mitocondriales como herramientas metodológicas en estas patologías.

MODIFICACIONES DIURNAS EN LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN, CITOQUINAS Y RECEPTORES DE CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA.

¹E. Torrecilla, ²M. González-Muñoz, ¹C. Lahoz y ¹J.M. Mostaza

¹Unidad de Arteriosclerosis, ¹Departamento de Inmunología. Hospital Carlos III. Madrid

Antecedentes: Las células mononucleares de sangre periférica desempeñan un importante papel en los estadios iniciales del

proceso aterosclerótico. Estas células, a través de determinadas moléculas de adhesión y receptores celulares presentes en su superficie, interactúan con otros receptores y moléculas de adhesión localizados en la superficie endotelial, favoreciéndose así su paso hacia el espacio subintimal. No existen estudios que evalúen si existe una variación fisiológica en la expresión de estos marcadores celulares a lo largo del día.

Objetivo: Evaluar si existen modificaciones en la expresión de distintas moléculas de adhesión (CD11a, CD49d, CD11b, CD62L y CD54), citoquinas (MCP-1) y receptores (CD162 y CCR2) implicados en la aterogénesis, en linfocitos y monocitos de sangre periférica, en una situación de ayuno mantenido durante 10 horas.

Métodos: Se citó en ayunas de 12 horas a 10 voluntarios de ambos sexos, menores de 40 años y normolipémicos. Se extrajeron muestras de sangre cada 2 horas durante 10 horas permitiéndose a los participantes beber únicamente agua "ad libitum". Con el plasma de las 6 extracciones se determinó la concentración de colesterol y triglicéridos totales por métodos enzimático colorimétricos. Con la sangre entera se realizó un marcaje con anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos frente a los marcadores en estudio. Mediante citometría de flujo se determinó la intensidad media de fluorescencia con la que las células expresaban dichos marcadores. Se valoraron los cambios temporales en las determinaciones evaluadas con una Anova de medidas repetidas.

Resultados: La edad media de los participantes fue de 33 años, 4 de ellos varones. El ayuno no produjo modificaciones apreciables en la concentración plasmática de colesterol y triglicéridos. En lo que respecta a los parámetros celulares se observó en monocitos una disminución progresiva y gradual ($p < 0,001$) de CD62L hasta alcanzar el máximo a las 8 horas del estudio. En linfocitos observamos un discreto aumento a las 2 horas de CD54 seguido de un descenso que, a las 8 horas, recuperó valores próximos a los basales ($p = 0,008$), y una disminución progresiva en la expresión de CD49d ($p = 0,029$) con valores 12% menores a los basales a las 10 horas. Además se observaron tendencias no significativas a una disminución en la expresión de CD162 y a un aumento en CD11b, MCP-1 y CCR2 en monocitos y a una disminución en la expresión de CD62L y CD162 en linfocitos.

Conclusiones: El ayuno de 10 horas produce escasas modificaciones en la expresión de moléculas de adhesión y receptores celulares en monocitos, y discretamente mayores en linfocitos, lo que debería tenerse en consideración en aquellos estudios que evalúen la expresión temporal de estas moléculas.

SISTEMAS ANTIOXIDANTES EN SUJETOS CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

^{1,2}S. Martínez-Hervás, ¹T. Pedro, ¹JT. Real, ²A.B. García-García, ²F.J. Chaves, ³G. Sáez-Tormo, ¹R. Carmena y ¹J.F. Ascaso

¹Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ²Fundación para la Investigación. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ³Departamento de Bioquímica y Biología molecular. Universidad de Valencia.

Objetivo: Nuestro objetivo fue evaluar la actividad de sistemas antioxidantes relacionados con el daño oxidativo a nivel endotelial en sujetos con hipercolesterolemia familiar heterocigota (HFh).

Material y métodos: Hemos estudiado a 31 sujetos normolipémicos, no diabéticos, no fumadores, no hipertensos (edad media 38 ± 4 años) y 32 sujetos (edad media 39 ± 3 años) de similar edad, género, IMC y perímetro de cintura. En todos los sujetos se determinaron mediante metodología estándar parámetros

antropométricos, lipídicos y lipoproteínas. La actividad de los sistemas antioxidantes se determinó en linfomonocitos: glutatión reducido (GSH), SOD, GPX1 y CAT mediante ensayo colorimétrico y glutatión oxidado (GSSG) por HPLC.

Resultados: Encontramos diferencias significativas entre sujetos control y con HFh en los niveles plasmáticos de colesterol total ($300,1 \pm 66,6$ vs $194,3 \pm 34,6$ mg/dl), cLDL ($217,2 \pm 62,9$ mg/dl) y apoB ($137,9 \pm 29,8$ vs $87,6 \pm 16,4$ mg/dl), y también en los niveles de GSH ($21,8 \pm 4,3$ vs $18,9 \pm 3,2$ nmol/mg proteína), GSSG ($0,28 \pm 0,13$ vs $0,35 \pm 0,14$ nmol/mg proteína) y GSSG/GSH.

Conclusión: Los sujetos con HFh muestran una reducción significativa de GSH, y un aumento significativo de GSSG respecto a los controles, indicando un mayor grado de estrés oxidativo.

TWEAK (TUMOR NECROSIS FACTOR-LIKE WEAK INDUCER OF APOPTOSIS) AUMENTA EL DAÑO RENAL Y VASCULAR INDUCIDO POR LA INGESTA DE UNA DIETA HIPERLIPIDÉMICA EN RATONES APOE-/-

¹J.A. Moreno, ¹B. Muñoz-García, ¹O. López-Franco, ¹A. Belén Sanz, ¹J. Luis Martín-Ventura, ²J. Blanco, ¹A. Ortiz^a, ¹J. Egido y ¹L.M. Blanco-Colio

¹Laboratorio de Nefrología Experimental y Patología Vascular, Fundación Jiménez Díaz, Universidad Autónoma, Madrid, Spain. ²Hospital Clínico, Madrid, Spain

Introducción: TWEAK (tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis) es un nuevo miembro de la superfamilia del TNF. TWEAK se une y activa al receptor Fn14, regulando procesos que juegan un papel importante en patogenia del daño renal y la aterosclerosis, tales como apoptosis, inflamación y angiogenesis.

Objetivo: Evaluar el efecto de la administración sistémica de TWEAK sobre la expresión de diversas citoquinas proinflamatorias y la severidad de la lesión vascular y renal en ratones hiperlipidémicos apoE-/-.

Métodos: Veintiséis ratones apoE-/- fueron alimentados con una dieta hiperlipidémica [21,2% grasa (0,15% colesterol) + 16,7% proteínas] por 4 semanas. Después, los animales fueron divididos al azar en 3 grupos: ratones inyectados con salino (controles), TWEAK (10µg/kg/día) o anti-TWEAK (10µg TWEAK+1000µg anti-TWEAK/kg/día) por 9 días.

Resultados: La inyección de TWEAK agravó el daño vascular (IMT: $5,0 \pm 0,1$ vs $3,0 \pm 0,1$, $p < 0,001$) y renal (score glomerular: $2,1 \pm 0,2$ vs $1,4 \pm 0,5$, $p < 0,01$; y score tubular: $1,7 \pm 0,4$ vs $1,0 \pm 0,6$, $p < 0,05$) con respecto al control. La inyección de TWEAK aumentaba la expresión de RANTES y MCP-1 en la lesión vascular ($16,7 \pm 12,3\%$ vs $5,0 \pm 16,8\%$, $p < 0,05$; y $23,0 \pm 11,0\%$ vs $4,3 \pm 3,3\%$, $p < 0,01$, respectivamente) y en el riñón ($23,8 \pm 4,3$ vs $9,1 \pm 1,1\%$, $p < 0,05$; y $13,0 \pm 3,3\%$ vs $6,7 \pm 1,1\%$, $p < 0,05$). Observamos un mayor grado de infiltración de macrófagos y activación de NF-kB en la placa ($52,0 \pm 14,5\%$ vs $7,9 \pm 3,8\%$, $p < 0,001$; and $18,2 \pm 6,1\%$ vs $5,4 \pm 1,4\%$, $p < 0,005$, respectivamente) y a nivel renal ($5,6 \pm 0,7$ vs $2,0 \pm 0,2\%$, $p < 0,001$; y $21,6 \pm 4,3\%$ vs $7,7 \pm 2,5\%$; $p < 0,01$ respectivamente) en aquellos ratones inyectados con TWEAK con respecto al control. Al inyectar el anticuerpo bloqueante de TWEAK se revertía la expresión de citoquinas proinflamatorias, el infiltrado de macrófagos y la severidad del daño vascular y renal.

Conclusión: Nuestros resultados sugieren que TWEAK podría exacerbar la respuesta inflamatoria asociada al consumo de una dieta rica en grasa. Esta proteína puede ser una nueva diana terapéutica para prevenir el daño vascular y renal asociado a la hiperlipidemia.

UNA DOSIS DE FRUCTOSA INDUCE ESTRÉS OXIDATIVO DURANTE UNA SESIÓN DE EJERCICIO CARDIOVASCULAR O DE FUERZA

¹J.M. Fernández, ²M.E. Da Silva-Grigoletto, ²J.R. Gómez-Puerto, ²B. Viana-Montaner, ¹P. Pérez-Martínez, ¹R. Moreno-Luna, ³I. Túnez Fiñana, ³I. Tasset-Cuevas, ¹J. López-Miranda y ¹F. Pérez-Jiménez

¹Unidad de lípidos y arteriosclerosis, Hospital Universitario Reina Sofía-Córdoba. ²Centro Andalúz de Medicina Deportiva-Córdoba. ³Departamento de bioquímica y biología molecular, Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba.

Introducción: El incremento de la glucemia aumenta el estrés oxidativo en forma dosis dependiente, en la situación de reposo físico. Sin embargo, durante el ejercicio, el estrés oxidativo puede influirse por el metabolismo no oxidativo de monosacáridos tales como la fructosa, nutriente éste último que con frecuencia se administra en la situación de pre-ejercicio.

Objetivo: Estudiar, si la adición de una dosis de fructosa (F) a un suplemento de glucosa (G), previamente al ejercicio físico, modifica la respuesta glucémica y el estado oxidativo en el curso de un ejercicio aeróbico y anaeróbico y durante sus fases de recuperación aguda.

Material y Método: 20 individuos sanos y físicamente entrenados consumieron una dosis oral de 50g de G o 50g de G + 15g de F, 15 minutos antes de iniciar una sesión de AE o AnE de 30 minutos de duración a una intensidad moderada. Cada sesión fue designada en un orden aleatorio y con un periodo de lavado de una semana entre cada una. La combinación de intervenciones resultó en 4 posibilidades G+AE, F+AE, G+AnE y F+AnE. Las concentraciones plasmáticas de glucosa, catalasa, glutatión, lipoperoxidos y ox-LDL fueron determinados en basal, durante cada ejercicio y su recuperación.

Resultados: Durante el AE y su recuperación no se hallaron diferencias en el pico glucémico entre los grupos; sin embargo en F+AE hubo mayores niveles de catalasa y lipoperoxidos en ambas fases (F+AE vs G+AE, $p < 0,05$); además durante el ejercicio la ox-LDL también fue mayor y el glutatión plasmático fue menor en este grupo (F+AE vs G+AE, $p < 0,05$). Durante el AnE, el pico glucémico fue menor tras la ingesta de F (F+AnE vs G+AnE, $p < 0,05$); sin embargo en este grupo se halló: un modesto incremento de catalasa y lipoperoxidos, un menor nivel de glutatión y ningún incremento de ox-LDL (F+AnE vs G+AnE, $p < 0,05$). Además, un segundo pico glucémico en la recuperación no se relacionó con empeoramiento del estado oxidativo en F+AnE.

Conclusiones: La adición de fructosa a la ingesta pre-ejercicio de glucosa incrementa el estrés oxidativo en ejercicios aeróbicos y anaeróbicos independientemente de la respuesta glucémica del suplemento ingerido.